

Aus der Wissenschaftlichen Einrichtung
Klinik für Klauentierkrankheiten und Fortpflanzungskunde
im Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

EIN BEITRAG ZUR TIEFGEFRIERUNG VON
RÜDENSERMA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Sabine Heidrich
Tierärztin aus Bremen

Berlin 1977
Journal-Nr. 916



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549022_0032

Aus der Wissenschaftlichen Einrichtung
Klinik für Kleintierkrankheiten und Fortpflanzungskunde
im Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

EIN BEITRAG ZUR TIEFGEFRIERUNG VON
RÜDENSERMA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Sabine Heidrich
Tierärztin aus Bremen

Berlin 1977
Journal-Nr. 916

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR:

Prof. Dr. H.-H. Frey

Referent:

Prof. Dr. D. Rohloff

Korreferent:

Prof. Dr. L. F. Müller



Tag der Promotion:

2. September 1977

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	S.	1
2.	Literaturübersicht	S.	
2.1	Samengewinnung beim Hund	S.	2
2.2	Spermatologie	S.	5
2.3	Spermakonservierung	S.	7
2.3.1	Spermakonservierung bei Kühlschranktemperaturen	S.	8
2.3.2	Spermakonservierung bei tiefen Temperaturen	S.	11
3.	Eigene Untersuchungen	S.	15
3.1	Material und Methode	S.	15
3.1.1	Tiermaterial	S.	15
3.1.2	Spermagewinnung	S.	15
3.1.3	Beurteilung der Ejakulate	S.	15
3.1.4	Versuchsplan und -durchführung	S.	16
3.1.5	Versuchsauswertung	S.	17
3.2	Versuchsergebnisse	S.	18
3.2.1	Einfluß verschiedener Verdünnungsmedien auf die Spermienmotilität	S.	18
3.2.2	Einfluß unterschiedlicher Glycerinkonzentrationen und -äquilibrierungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner	S.	33
3.2.3	Zugabe des Glycerins bei Zimmertemperatur und bei + 5° C	S.	40
3.2.4	Einfluß unterschiedlicher DMSO-Konzentrationen und -äquilibrierungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner	S.	53
3.2.5	Prüfung kombinierter Zusätze von DMSO und Glycerin in der Rüdenspermatiefgefrierung	S.	63
3.2.6	Einfluß unterschiedlicher Abkühlzeiten auf die Spermienmotilität bei kombinierten Zusätzen von DMSO und Glycerin	S.	73
4.	Diskussion	S.	99
5.	Zusammenfassung	S.	103
6.	Summary	S.	105
7.	Literaturverzeichnis	S.	107

1. Einleitung

Die Langzeitkonservierung von Rüdensperma ist, nachdem es SEAGER (1969 und 1974) und van GEMERT (1970), SEAGER und FLETCHER (1972 und 1973) sowie ANDERSEN (1972 und 1975) gelungen ist, die Befruchtungsfähigkeit von Rüdensperma nach der Tiefgefrierung nachzuweisen, wieder in den Blickpunkt des Interesses gelangt. Die von den genannten Autoren und in der übrigen einschlägigen Literatur gemachten Angaben über günstige Verdünnungsmedien, Gefrierschutzsubstanzen, deren optimale Konzentrationen und -anpassungszeiten sind derart uneinheitlich, daß in der vorliegenden Arbeit der Versuch unternommen werden sollte, die beschriebenen Verfahren zu überprüfen und durch vergleichende Untersuchungen die günstigste Methode zur Tiefgefrierung von Ejakulaten dieser Tierart zu finden. Dabei sollte neben dem Glycerin, das von u. a. LAIBLIN (1974) bei der Kaninchenspermatiefgefrierung mit Erfolg verwendete DMSO als Gefrierschutzsubstanz überprüft werden, obwohl über die Wirkungsweise des DMSO bei der Spermakonservierung bisher wenig bekannt ist.

2. Literaturübersicht

2.1 Samengewinnung beim Hund

Eine erfolgreiche Samenkonservierung setzt die Gewinnung qualitativ und quantitativ guten Samens voraus. In der Literatur sind mehrere Entsamungsmethoden für den Rüden beschrieben worden.

BIEDERMANN (1951) verwendete eine künstliche Scheide für Schafe und Ziegen, eine Modifikation des GÖTZE-Modells von 1948. Durch manuelle Massage bewirkte er eine Erektion des Penis und setzte erst dann die künstliche Scheide auf. Da mit der künstlichen Scheide die Friktionsbewegungen des Rüden mitgemacht werden müssen, kam diese Methode einer Penismassage gleich. Als Nachteil erwies sich, daß mit diesem Verfahren eine fraktionierte Samengewinnung nicht möglich war.

HARROP (1954 a) entwickelte eine neue künstliche Scheide für Hunde, nachdem er mit der Schafscheide (Cambridge Modell) und einer künstlichen Scheide nach dänischem Muster nur unbefriedigende Ergebnisse erzielt hatte. HARROP benutzte eine verkleinerte Bullenvagina. Nach mehrfachen Entsamungen stellte er bei den Rüden ein Nachlassen der Libido fest. Aus diesem Grunde baute er zwischen Innenschlauch und Mantelrohr der künstlichen Scheide einen Pulsator ein. Dieser Pulsator war durch ein Ventil nach außen mit einer Pumpe verbunden, so daß Luft in die künstliche Scheide hineingedrückt werden konnte. Dadurch wurde das Lumen der Vagina variiert, was eine optimale Anpassung an die jeweilige Penisgröße bedeutete, außerdem wurde so ein massageähnlicher Effekt erzielt. Die Gegenwart einer läufigen Hündin war nach HARROP bei dieser Methode nicht mehr erforderlich.

Im Gegensatz zu HARROP (1954 a) konnten MACPHERSON und PENNER (1967) mit künstlichen Scheiden keine zufriedenstellenden

Ergebnisse erzielen. Sie vermuteten, daß bei Gewöhnung der Rüden an künstliche Scheiden bessere Resultate erzielt werden könnten.

BOUCHER und Mitarbeiter (1958) berichteten, daß die Spermienmotilität in Ejakulaten, die mit künstlichen Scheiden gewonnen worden waren, geringer war als in durch Massage gewonnenen Ejakulaten. Sie konnten zeigen, daß sich ein längerer Kontakt der Spermien mit dem Gummiinnenschlauch sowie eine Temperatur von ca. $+ 40^{\circ} \text{C}$ in der künstlichen Scheide nachteilig auf die Spermienmotilität auswirkten. SEAGER und FLETCHER (1972) sahen besonders bei kleineren Hunderassen Nachteile in der Anwendung künstlicher Scheiden.

Als weitere Möglichkeit zur Samengewinnung beim Rüden wurde die Elektroejakulation beschrieben. Hierzu wurden dem Rüden eine Lenden- und eine Rektalelektrode angelegt (BIEDERMANN, 1951). Er verwendete bei seinen Versuchen Stromstärken von 140-180 mA. Die notwendige Anzahl der elektrischen Reize war individuell verschieden, die Stromstärke sollte aber möglichst niedrig gehalten werden. BIEDERMANN katheterisierte die Rüden oder verabreichte vor der Elektroejakulation Diuretika, um Harnbeimengungen im Ejakulat zu vermeiden. Zusätzlich legte er die Hunde vor der Elektroejakulation in Narkose. Die so gewonnenen Ejakulate waren jedoch in der Regel trotzdem mit Harn verunreinigt. Als weiterer Nachteil zeigte sich, daß diese Methode für die Hunde nicht ungefährlich ist. BIEDERMANN (1951) beobachtete Paresen der Nachhand, MACPHERSON und PENNER (1967) konnten nach Elektroejakulationen schwere Muskelspasmen und psychische Störungen feststellen. Da Elektroejakulationen außerdem sehr arbeitsaufwendig sind, würden sie in der Praxis kaum Bedeutung gewinnen; sie seien nur zu empfehlen, wenn alle anderen Methoden nicht zum Ziel führten.

SCHEFELS (1969) berichtete über die Samengewinnung mittels eines Vibrators. Er benutzte einen handelsüblichen Vibrator für kosmeti-

sche Zwecke. Der Massagekopf wurde durch ein Gläschen mit Trichtereinsatz ersetzt. Mit diesem Gerät konnte er bei 65 % seiner Versuchshunde Ejakulate gewinnen. SCHEFELS zog diese Methode allen anderen vor, da sie ungefährlich für die Hunde und auch wenig aufwendig sei. Weiterhin zog er diese Methode aus ästhetischen Gründen der Samengewinnung mittels Penismassage vor.

Von mehreren Autoren wurde die manuelle Penismassage als beste Entsamungsmethode beschrieben (BOUCHER und Mitarbeiter, 1958; KRAUSE, 1965; MACPHERSON und PENNER, 1967; SEAGER und FLETCHER, 1972).

In einer vergleichenden Untersuchung prüften BOUCHER und Mitarbeiter (1958) verschiedene Samengewinnungsmethoden. Neben der Penismassage, die sie in Anwesenheit und auch ohne Beisein einer läufigen Hündin durchführten, wurden Rüden auch mit künstlichen Scheiden in Gegenwart von läufigen Hündinnen entsamt. Hierbei konnten sie feststellen, daß die Samengewinnung durch Penismassage im Beisein einer läufigen Hündin die besten Resultate lieferte. Nach ihren Angaben nimmt die Spermienkonzentration durch die Gegenwart einer läufigen Hündin zu.

KRAUSE (1965) zog die Anwendung der Massage vor, weil sie wenig aufwendig sei und das Ejakulat ohne weiteres fraktioniert gewonnen werden kann. Seiner Meinung nach ist die Anwesenheit einer läufigen Hündin nicht erforderlich. Als Samenauffanggefäße benutzte KRAUSE tulpenförmige Glasgefäße, die auch bei der Samengewinnung beim Bullen verwendet werden. Er empfiehlt, die Gefäße vor ihrer Verwendung auf ca. + 25⁰ C in einem Wasserbad zu erwärmen.

MACPHERSON und PENNER (1967) benutzten als Samenauffanggefäße Petri-Schalen, die 5 ml sterilen Magermilchverdünner enthielten. Es wurde jeweils nur die erste und zweite Fraktion der Ejakulation aufgefangen. Bei der Entsamung war der Erfolg besser, wenn sie die

Penismassage ohne Handschuhe ausführen.

SEAGER und FLETCHER (1972) untersuchten verschiedene Samenauffanggefäße. Sie empfahlen als Methode der Wahl die Verwendung eines konisch zulaufenden Plastikschlauches, an dessen Ende sie ein Zentrifugenröhrchen befestigten. Besonders für Rüden, die starke Nachstöße machen, hielten sie diese Methode für geeigneter als die Samengewinnung mit einem starren Gefäß, da eine Berührung des Gefäßes mit dem Penis den Rüden ablenken und zu Verletzungen führen kann.

Bei Entsamungen von Rüden im Freien empfahlen sie, das Reagenzröhrchen mit einem temperierten Wassermantel nach außen zu isolieren. Dadurch würden die Spermien bei kalten Außentemperaturen vor einem Kälteschock geschützt.

BOUCHER und Mitarbeiter (1958) untersuchten die Beeinflussung der Spermaqualität durch die Häufigkeit der Samenentnahme. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß die Entsamung nicht öfter als alle zwei Tage erfolgen sollte, da sonst die Anzahl der Spermien zu stark vermindert wird. Die Motilität wird durch die Häufigkeit der Samengewinnung jedoch nicht beeinflußt. Auch die Libido sexualis sinkt durch die häufige Entsamung nicht ab.

FOOTE (1964 b) beobachtete ebenfalls, daß die Spermienkonzentration mit einer Vergrößerung der Entsamungsintervalle zunimmt.

2.2 Spermatologie

Für die spermatologische Beurteilung von Hundeejakulaten werden die gleichen Kriterien herangezogen, wie sie auch für andere Haustierarten üblich sind. Nach der Gewinnung sollte das Ejakulat zunächst grobsinnlich geprüft werden. Dies beinhaltet die Beurteilung von Menge, Farbe, Viskosität, Geruch sowie die Prüfung auf Ver-

unreinigungen. Es folgt die Bestimmung der Spermiendichte und -motilität sowie des ph-Wertes.

Die spermatologischen Werte sind weitgehend abhängig von Alter, Fütterung, Haltung und sexueller Beanspruchung der Tiere. FREIBERG (1935) stellte fest, daß Hunde in drei Phasen ejakulieren. Die Farbe der einzelnen Ejakulatsfraktionen ist unterschiedlich, sie hängt von der jeweiligen Spermiendichte ab. Die erste Fraktion besteht aus dem Sekret der Urethraldrüsen, Spermien sind in dieser Phase nur vereinzelt vorhanden. Die Farbe ist durchsichtig-klar bis hellmilchig. Die zweite Phase ist milchig-weiß, sie ist die spermareiche Phase. Die dritte Phase ist farblos bis hellmilchig und enthält kaum noch Spermien. Sie besteht ausschließlich aus dem Sekret der Prostata (GÖTZE, 1949).

SEAGER und FLETCHER (1972) beobachteten, daß die Ejakulationsdauer der einzelnen Phasen unterschiedlich lang ist. HARROP (1955) hatte diese Tatsache ebenfalls beobachtet. Er gab folgende Zeiten an: 1. Phase 30-50 Sekunden, 2. Phase 50-80 Sekunden, 3. Phase 3-30 Minuten.

Über die Gesamtejakulatmengen werden in der Literatur sehr unterschiedliche Angaben gemacht. HARROP (1955) erhielt folgende Werte für die einzelnen Fraktionen: 1. Fraktion 0,2-2,0 ml; 2. Fraktion 0,5-3,5 ml; 3. Fraktion 3-20 ml. BAHLAU (1958) erhielt Gesamtejakulate von 3,5 bis 18,0 ml. KRAUSE (1965) gab eine Varianz des Volumens von 3 bis 30 ml an, SEAGER und FLETCHER (1972) für die beiden ersten Fraktionen Mengen von 0,5-6,5 ml. Bei der Beurteilung der Gesamtejakulatmenge muß berücksichtigt werden, daß kleine Hunderassen naturgemäß auch kleinere Ejakulate als Rüden größerer Rassen liefern (FOOTE, 1974).

Die Angaben über die Spermiendichten im Gesamtejakulat schwanken zwischen $0,05 \text{ Mill/mm}^3$ und $0,2 \text{ Mill/mm}^3$ (GÖTZE, 1949; BAHLAU, 1958; BOUCHER und Mitarb., 1958). SEAGER und FLETCHER (1972)

stellten in den beiden ersten Fraktionen eine durchschnittliche Spermiedichte von $5,64 \text{ Mill/mm}^3$ fest, FOOTE (1974) bei Beagle-Rüden nur $0,2 \text{ Mill/mm}^3$. Er wies jedoch auf große Unterschiede bei den einzelnen Rüden und bei Tieren verschiedenster Rassen hin. Außerdem bemerkte er, daß mit Verkürzung der Entsamungsintervalle die Ejakulatsvolumina geringer werden. Die Bestimmung der Dichte erfolgt am einfachsten mit einem Häemocytometer (HARROP, 1965; KRAUSE, 1965; SEAGER und FLETCHER, 1972). FOOTE (1964) hielt die photoelektrische Messung der Spermiedichte für eine schnelle, genaue und leicht durchzuführende Methode.

Der ph-Wert von Rüdensperma liegt durchschnittlich bei 6,0 (SEAGER und FLETCHER, 1972). HARROP (1955) stellte in den einzelnen Ejakulatsfraktionen fremde ph-Werte fest: 1. Fraktion 6,37; 2. Fraktion 6,10; 3. Fraktion 7,20. BOUCHER und Mitarbeiter (1958) berichteten von einer Abhängigkeit des ph-Wertes von der Entsamungsmethode.

Die Beurteilung der Ejakulatmenge und der Spermiedichte muß unter Berücksichtigung der Entsamungstechnik, der Frequenz und der sexuellen Stimulation geschehen (BOUCHER und Mitarb., 1958). Die Beurteilung der Spermienbeweglichkeit wird auf die in der Spermatologie übliche Weise durchgeführt. Dabei wird der prozentuale Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien am Gesamtejakulat mit Hilfe von Deckglaspräparaten geschätzt. Diese Untersuchungen sollen sofort nach der Samengewinnung durchgeführt werden, damit die Motilität nicht durch Kälteeinwirkung beeinflußt wird. Die Bestimmung sollte am zweckmäßigsten mit einem beheizten Mikroskop bei ca. 35°C erfolgen (HARROP, 1955; SEAGER und FLETCHER, 1972; FOOTE, 1974). In Ejakulaten bester Qualität werden ca. 90 % vorwärtsbewegliche Spermien erwartet (FOOTE, 1974).

2.3 Spermakonservierung

Das Ziel der Spermakonservierung liegt in dem Bestreben, die Be-

fruchtungsfähigkeit der Spermien außerhalb des Körpers über längere Zeit zu erhalten. Soll die Besamung kurz nach der Samengewinnung erfolgen, so ist eine Verdünnung nicht unbedingt erforderlich. Wenn der Samen aber für längere Zeit aufbewahrt werden soll, dann muß eine Verdünnung stattfinden. Die Verdünnungsmedien enthalten Puffer, sowie Zusätze, die der Ernährung der Spermien dienen (GÖTZE, 1949). Die Zusammensetzung solcher Verdünnern für Hundesperma hat sich zum großen Teil aus Verdünnern für Samen anderer Tierarten entwickelt. Die Erfahrungen, die mit den verschiedenen Verdünnern bisher gemacht worden sind, sind sehr unterschiedlich.

2.1.3 Spermakonservierung bei Kühlschranktemperaturen

Sperma, das bei niederen Temperaturen gelagert wird, behält seine Befruchtungsfähigkeit länger als Sperma, das bei Körpertemperatur aufbewahrt wird (IVANOV, 1926). Er beobachtete, daß Nebenhodenspermien von Kaninchen und Meerschweinchen ihre Befruchtungsfähigkeit nach sieben Tagen noch nicht verloren hatten, wenn die isolierten Nebenhoden bei $+1^{\circ}\text{C}$ bis $+2^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt wurden.

HAMMOND (1930) gewann ejakulierte Kaninchenspermien aus der Scheide weiblicher Tiere zurück und lagerte sie bei einer Temperatur von $+12^{\circ}\text{C}$. Sie behielten ihre Befruchtungsfähigkeit über mehrere Tage. MILOVANOV (1934) stellte fest, daß Spermien ihre Lebensfähigkeit verlieren, wenn sie zu schnell abgekühlt werden. Er beobachtete, daß Spermien bei rascher Abkühlung auf weniger als $+20^{\circ}\text{C}$ einen Kälteschock erleiden, während sie ihre Lebensfähigkeit behielten, wenn sie von Körpertemperatur auf -20°C vorgekühlt und anschließend allmählich im Laufe von 2-4 Stunden auf niedrigere Temperaturen heruntergekühlt wurden. WILLETT und SALISBURY (1942) sahen bei Bullensamen ein Absinken der Temperatur um 5°C in 20 Minuten als optimal an.

Die absolute Lebensdauer von unverdünntem Hundesperma gab BIEDERMANN (1951) mit 24 Stunden an. Die durchschnittliche Le-

bens- und Befruchtungsdauer lag bei 5-8 Stunden, wobei Sperma, das mit der künstlichen Scheide gewonnen worden war, eine bessere Überlebensdauer zeigte. Durch Abkühlung des Spermas gelang ihm nur eine unwesentliche Verbesserung dieser Überlebenszeiten. Um die Lebensdauer der Spermien zu verlängern, benutzte er verschiedene Verdünnungsmedien. In einem Eidotter-Glukose-Verdüner lebten die Spermien 72 Stunden; in einem Hundeserum-Glukose-Verdüner betrug die Überlebenszeit 144 Stunden. Die Aufbewahrungstemperatur lag bei $+ 4^{\circ} \text{C}$. LÖFSTEDT (1951) verdünnte Hundesperma in einer Glukose-Phosphat-Pufferlösung, der Eigelb zugesetzt worden war. Bei $+ 4^{\circ} \text{C}$ wurde der Samen für 50 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt. Das Sperma war nach 4-6 Tagen noch befruchtungsfähig. Mit so gelagertem Samen gelang es ihm, erfolgreiche Besamungen zu erzielen. BROCHART und COULOMB (1952) untersuchten zwei weitere Verdüner, einen hypertonischen Eidotter-Natrium-Citrat-Verdüner und einen isotonischen Eidotter-Fruktose-Verdüner. Sie konnten mit beiden Medien die Lebensfähigkeit der Spermien für vier Tage bei einer Lagertemperatur von $+ 4^{\circ} \text{C}$ aufrechterhalten. Die Motilität der Spermien betrug dabei 50 %. HARROP (1954 b) verdünnte Sperma im Verhältnis 1:8 mit pasteurisierter Magermilch und lagerte es bei $+ 4^{\circ} \text{C}$. Das Sperma war nach 4-6 Tagen noch befruchtungsfähig. 1956 verschickte HARROP mit Milch verdünntes Sperma von England nach Amerika. Der Transport erfolgte bei $+ 4^{\circ} \text{C}$. 140 Stunden alter Samen zeigte eine Vorwärtsbeweglichkeit von 30 %. Mit diesem Samen wurden fünf Hündinnen besamt, von denen eine konzipierte und fünf Welpen warf. BAHLAU (1958) erzielte die besten Ergebnisse mit einem Magermilchverdünner folgender Zusammensetzung:

10,0 Magermilchpulver
10,0 Eidotter
ad 100,0 Wasser

Die Spermien waren nach 303 Stunden noch lebensfähig. Nach 192 Stunden konnte er noch eine Vorwärtsbewegung von ca. 45 % beobachten. FOOTE und LEONARD (1964) untersuchten ebenfalls die Auswirkungen verschiedener Verdüner auf die Überlebensrate von Hun-

despermien. Sie verwendeten in ihren Versuchen nur die spermareichen Phasen der Ejakulate. Als bestes Medium erwies sich bei ihnen ein Verdünner folgender Zusammensetzung:

1,16 g Natriumhydrogencitrat
0,75 g Glykokoll
1,00 g Glukose
20,00 ml Eidotter
80,00 ml aqua dest.

Dieser Verdünner enthielt noch 100.000 I.E. Penicillin und 100 mg Dihydrostreptomycin als Antibioticazusatz. In diesem Verdünner konnte bei einer Lagerungstemperatur von $+5^{\circ}\text{C}$ noch nach 13 Tagen eine Spermienvorwärtsbewegung von 40 % beobachtet werden. Im Gegensatz zu WALES und WHITE (1963) erzielten FOOTE und LEONARD (1964) mit einem Natrium-Citrat-Puffer bessere Konservierungserfolge, als mit einem Phosphat-Puffer. In einem Vergleich mit einem Magermilch-Verdünner erzielten sie im Gegensatz zu HARROP (1954 b) und BAHLAU (1958) nur wenig befriedigende Ergebnisse. GILL und Mitarbeiter (1970) benutzten einen TRIS-Verdünner folgender Zusammensetzung:

2,4 g Trishydroxymethylaminomethan (TRIS)
1,3 g Citronensäure-Monohydrat
1,0 g Fruktose
8,8 ml Glycerin
72,2 ml aqua bidest.
20,0 ml Eidotter
100,0 mg Streptomycin
100.000 IE Penicillin

Das verdünnte Sperma wurde in einer Stunde auf $+5^{\circ}\text{C}$ heruntergekühlt. Diese Abkühlgeschwindigkeit entsprach der von WILLETT und SALISBURY (1942) beschriebenen Kühlgeschwindigkeit von 5° pro Minute. Der verdünnte Samen wurde 24 Stunden bei $+5^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt und anschließend zur Besamung verwendet. Die Wurfsergebnisse waren gleich hoch wie bei mit Frischsamen besamten Kontrolltieren. SEAGER und FLETCHER (1972) verdünnten mit dem von THACKER und ALMQUIST (1953) für die Verdünnung von Bullensperma beschriebenen Magermilchverdünner. Sie stellten eine Verdünnung von 1 : 4 her und lagerten den Samen bei Temperaturen von $+4^{\circ}\text{C}$ bis

+ 8° C im Kühlschrank. In ihren Versuchen zeigte sich ebenfalls, daß die Spermienmotilität besser war, wenn nur die spermareichen Phasen zur Konservierung benutzt wurden. WALES und WHITE (1963) hatten bereits eine negative Beeinflussung der Spermienmotilität durch das Prostatasekret der dritten Ejakulationsphase beobachtet.

2.3.2 Spermakonservierung bei tiefen Temperaturen

Nachdem Hundesperma anfänglich überwiegend bei Kühlschranktemperaturen gelagert worden war, ist in den letzten Jahren vermehrt über die Spermatiefkühlung gearbeitet und berichtet worden, ein Verfahren, das in der Rinderzucht bereits seit mehreren Jahrzehnten mit großem Erfolg praktiziert wird. Durch diese Konservierungsform ist es möglich, Samen über lange Zeit bei Aufrechterhaltung seiner vollen Befruchtungsfähigkeit zu lagern und zu jeder Zeit zur Verfügung zu haben.

Bei Untersuchungen an Hodensyphilomen von Kaninchen machte JAHNEL (1938) zufällig die Beobachtung, daß in den Syphilomen enthaltene Spermien nach einer Abkühlung auf - 196° C ihre Beweglichkeit nach dem Auftauen wiedererlangten. Daraufhin führte er gezielte Versuche mit menschlichem Sperma durch und stellte fest, daß dieses sehr gut in flüssigem Stickstoff aufzubewahren ist.

Beim Einfrieren von Sperma besteht die Gefahr der Zellschädigung durch Kristallbildung. Um dieses zu verhindern, sind verschiedene Substanzen auf ihre kryoprotektive Eigenschaft hin untersucht worden. An menschlichen Spermien wurden Untersuchungen mit Glycerin, Propylenglykol und Äthylenglykol durchgeführt. Wurden diese Substanzen vor dem Einfrieren zugesetzt, so war die Motilität der Spermien nach dem Auftauen größer, als nach dem Einfrieren ohne eine dieser Schutzsubstanzen (POLGE u. Mitarb., 1949).

POLGE und Mitarbeiter (1949) berichteten über Versuche mit Geflügelsperma, das in Ringer-Lösung mit einem Glyceringehalt von 40 % bei einer Temperatur von -79°C eingefroren wurde. Die Spermien zeigten nach dem Auftauen die gleiche Motilität und Massenbewegung, wie nicht eingefrorene Kontrollen. Propylenglykol und Äthylenglykol schienen gegenüber den Samenzellen eine größere Toxizität zu besitzen als Glycerin. Aufgrund mikroskopischer Untersuchungen kamen SMITH und POLGE (1950) zu dem Ergebnis, daß Glycerin den Kristallisationsprozeß derart verändert, daß mechanische Zellschädigungen weitgehend verhindert werden. Fehlte der Glycerinzusatz, so waren Schädigungen an Kopfkappen und Mittelstücken zu beobachten.

BAHLAU (1958) untersuchte die Glycerinverträglichkeit von Hundesperma. Er verdünnte den Samen mit einem 3 %igen Natrium-Citrat-Puffer, der Glycerinzusatz erfolgte bei Zimmertemperatur. Eine fraktionierte Zugabe des Glycerins wirkte sich negativ auf die Spermien aus. Die optimale Glycerinkonzentration lag bei 6,5 %, die maximale Konzentration sollte nicht mehr als 10 % betragen. Im Vergleich zwischen langsamer Abkühlung und Sturzkühlung auf -79°C erbrachte die Sturzkühlung deutlich bessere Ergebnisse. Verschiedene Äquilibrierungszeiten zeigten keine Unterschiede. Das Auftauen der Samenportionen erfolgte in einem Wasserbad von $+38^{\circ}\text{C}$. Nach dem Auftauen lag die Motilität der Spermien bei 40 %.

HARROP (1962) verdünnte Sperma 1 : 8 mit einem Eidotter-Citrat-Verdünner und setzte 10 % Glycerin hinzu. Nach einer Äquilibriierungszeit von zwei Stunden bei $+4^{\circ}\text{C}$ wurde der Samen langsam auf -79°C heruntergekühlt. Nach 12 Monaten Lagerungszeit waren 45 % der Spermien vorwärtsbeweglich. MARTIN (1963 a, b) verglich zur Rüdenspermakonservierung einen 9 %igen Magermilchverdünner, einen Ringer-Fruktose-Phosphat-Verdünner und einen Citrat-Fruktose-Phosphat-Verdünner. Die besten Ergebnisse wurden mit dem Magermilchverdünner erzielt, dem 8 % Glycerin zugesetzt worden waren. Es zeigte sich, daß die Spermienmotilität höher war, wenn

zum Auftauen glycerinfreier Verdünner verwendet wurde. Bei FOOTE (1964 a) erwies sich ein TRIS-Eidotter-Verdünner, der 11 % Glycerin enthielt, verschiedenen Citrat-Eidotter-Glycerin-Verdünnern überlegen. Nach dem Auftauen waren 41 % der Spermien vorwärtsbeweglich. Auch GILL und Mitarbeiter (1970) verwendeten einen TRIS-Verdünner, der 8 % Glycerin enthielt, zur Rüdenspermatiefgefrierung. Nach dem Auftauen lag der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien zwischen 40 und 50 %.

Erstmals wurde von SEAGER (1969) über erfolgreiche Besamungsversuche mit tiefgefrorenem Sperma berichtet. Als Verdünner benutzte er den von NAGASE und NIWA (1964) für die Verdünnung von Bullensamen beschriebenen 11 %igen Lactose-Verdünner mit einem Zusatz von 4 % Glycerin und 20 % Eidotter. Das Sperma wurde bei Zimmertemperatur verdünnt und anschließend auf $+ 5^{\circ} \text{C}$ abgekühlt. Die Verdünnung erfolgte im Verhältnis 1 : 3.

Nach Meinung von SEAGER und FLETCHER (1973) ist es am günstigsten, die Verdünnung in drei Schritten vorzunehmen. Die erste Stufe sollte bei Zimmertemperatur, die weiteren Verdünnungsstufen erst nach Abkühlung auf $+ 5^{\circ} \text{C}$ gemacht werden.

VAN GEMERT (1970) besamte eine Hündin intravaginal mit tiefgefrorenem Sperma. Die Hündin konzipierte und warf neun gesunde Welpen. Als Verdünner wurde auch hier der Lactose-Verdünner von NAGASE verwendet.

SEAGER (1974) berichtete über den Transport von tiefgefrorenem Samen. Das Sperma war in Pelletform in flüssigem Stickstoff an verschiedene Orte per Schiff verschickt worden, eine Hündin wurde damit erfolgreich besamt.

ANDERSEN (1972) wiederholte die Versuche von SEAGER (1969) und van GEMERT (1970). Als Verdünner kam neben dem Lactose-Ver-

dünnere nach NAGASE der TRIS-Verdünnere nach DAVIS und Mitarbeitern (1963) zur Anwendung. Inseminationen wurden zweimal im Abstand von 48 Stunden vorgenommen. Es wurde jedoch keine der Hündinnen tragend. Nur eine der Hündinnen, die nicht intravaginal, sondern direkt in das Corpus uteri hinein besamt worden war, warf drei lebende Junge. Der Autor nahm aufgrund dieser Ergebnisse an, daß tiefgefrorener Samen seine Befruchtungsfähigkeit verliert, wenn er in die Vagina der Hündin verbracht wird. Er schloß daraus, daß ein Faktor, der für den Transport der Spermien in den Uterus erforderlich ist, durch den Einfrierprozeß, das Auftauen oder durch den Zusatz von Glycerin zerstört wird. Bei späteren Versuchen benutzte ANDERSEN (1975) nur den TRIS-Verdünnere mit einem 8 %igen Glycerinzusatz. Die Verdünnung erfolgte im Verhältnis 1 : 3 bzw. 1 : 5. Das Verdünnungsverhältnis richtete sich nach der Spermien-dichte des Ejakulates, die Abkühlzeit betrug drei Stunden. Die Glycerinzugabe erfolgte bei Zimmertemperatur, so daß die Abkühlzeit der Glycerinanpassungszeit entsprach. Die Lagerung erfolgte in PVC-Röhrchen in flüssigem Stickstoff. Nach unterschiedlicher Lagerungszeit - bis zu 1 1/2 Jahren - wurde das Sperma zur Insemination verwendet. Im Gegensatz zu den bisher durchgeführten Besamungen wurde das Sperma intrauterin deponiert. Von elf Hündinnen konzipierten zehn und warfen ein bis sieben Welpen.

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methode

3.1.1 Tiermaterial

Als Samenspende standen sechs Beagle-Rüden im Alter von zwei Jahren zur Verfügung. Sie waren nicht auf die Einfrierbarkeit ihrer Ejakulate selektiert worden. Die Rüden wurden in Gruppen zu jeweils fünf Tieren gehalten. Sie bekamen Trockenpreßfutter (Altromin) und Wasser ad libitum.

3.1.2 Spermagewinnung

Die Spermagewinnung wurde zweimal wöchentlich vorgenommen. Die Rüden wurden in einem fahrbaren Käfig zur Entsamung in einen abgeschlossenen Raum gebracht. Zur Samenentnahme wurden jeweils zwei Rüden freigelassen, während die anderen vier Hunde im Käfig verblieben.

Die Spermagewinnung erfolgte durch Penismassage. Als Samenauffanggefäße dienten auf ca. $+ 25^{\circ}$ bis $+ 30^{\circ}$ C erwärmte weithalsige Glasgefäße (Erlenmeyer-Kolben). Es wurden jeweils nur die spermareichen Fraktionen aufgefangen.

3.1.3 Beurteilung der Ejakulate

Die Beurteilung der Nativejakulate fand unmittelbar nach der Samengewinnung im Labor statt. Bestimmt wurden Menge, Dichte sowie der prozentuale Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien. Die Spermiedichte wurde in einem Hämocytometer nach THOMA ermittelt, die Schätzung des prozentualen Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien erfolgte im Deckglaspräparat mit Hilfe eines beheizten Phasenkontrastmikroskopes bei 400-facher Vergrößerung.

3.1.4 Versuchsplan und -durchführung

Über einen Versuchszeitraum von vier Monaten wurden die sperma-reichen Phasen von 174 Ejakulaten gewonnen und konserviert. Jedes Ejakulat wurde in vier bzw. sechs Portionen aufgeteilt, so daß 2608 Ejakulatportionen vergleichenden Untersuchungen unterzogen wurden. Folgende Kriterien gelangten zur Untersuchung:

1. Einfluß verschiedener Verdünnungsmedien auf die Spermienmotilität.
2. Einfluß unterschiedlicher Glycerinkonzentrationen und -äquiliebrungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner.
3. Zugabe des Glycerins bei Zimmertemperatur und bei + 5°C.
4. Einfluß unterschiedlicher DMSO-Konzentrationen und -äquiliebrungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner.
5. Prüfung kombinierter Zusätze von DMSO und Glycerin in der Rüdenspermatiefgefrierung.
6. Einfluß unterschiedlicher Abkühlzeiten auf die Spermienmotilität bei kombinierten Zusätzen von DMSO und Glycerin.

Nach der Spermagewinnung wurden die Ejakulate im Labor spermatologisch untersucht. Anschließend erfolgte eine Aufteilung in Portionen von jeweils 50 mm1. Der Verdünnungsgrad betrug in allen Versuchsreihen 1 : 2 (1 Teil Sperma + 2 Teile Verdünner).

In den Untersuchungen wurden folgende Verdünner hinsichtlich ihrer Eignung geprüft:

1. TRIS-Verdünner nach FOOTE
2. IVT-Verdünner
3. 11 %iger Lactose-Verdünner nach NAGASE und NIWA

Diesen Verdünner wurde je nach Versuchsanordnung Glycerin oder DMSO zugesetzt. Das Abkühlen, Einfrieren und die Lagerung der

100 mml großen Pellets erfolgte nach der bei LAIBLIN (1974) beschriebenen Methode in gekennzeichneten EPPENDORF-Reaktionsgefäßen in flüssigem Stickstoff. Die Ejakulate wurden jedoch nicht wie bei LAIBLIN gewaschen, da sich in Vorversuchen herausgestellt hatte, daß das Waschen von Rüdensperma vor der Konservierung keine Vorteile für den Konservierungserfolg bringt.

3.1.5 Versuchsauswertung

Das Auftauen der 100 mml großen Pellets erfolgte frühestens 48 Stunden nach dem Einfrieren. Die Pellets wurden in 200 mml, auf + 37° C vorgewärmten, dotterfreiem, jeweils zu prüfenden Verdünner ohne DMSO- bzw. Glycerinzusatz gegeben und aufgetaut. Nach ca. fünf Minuten Auftauzeit wurde der prozentuale Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien geschätzt.

3.2 Versuchsergebnisse

3.2.1 Einfluß verschiedener Verdünnungsmedien auf die Spermienmobilität

Diese Untersuchungen wurden an 46 Ejakulaten durchgeführt. Die Ejakulatgrößen lagen zwischen 0,7 ml und 7,6 ml, die Dichten betrugen 0,03 bis 0,57 Mill/mm³. Die Spermienvorwärtsbeweglichkeit lag bei 90 bis 95 %.

Folgende Verdünner kamen zur Anwendung:

1.) 11 %iger Lactose-Verdünner nach NAGASE und NIWA

Lactose-Monohydrat	11,0 g
Dotter	20,0 ml
Aq. dest.	ad 100,0 ml

2.) IVT-Verdünner

Natrium-Citrat	20,0 g
Na-Hydrogenkarbonat	2,1 g
Kaliumchlorid	0,4 g
Glukose	3,0 g
Dotter	20,0 ml
Aq. dest.	ad 100,0 ml

3.) TRIS-Verdünner nach FOOTE

Trishydroxymethylaminomethan	3,028 g
Fruktose	1,250 g
Citronensäure nach SÖRENSEN	1,730 g
Dotter	20,0 ml
Aq. dest.	ad 100,0 ml

In dieser Versuchsreihe wurden die Ejakulate jeweils 1 : 2 verdünnt. Die erste Verdünnung (1 : 1) erfolgte bei Zimmertemperatur. Der Zusatz des glycerinhaltigen Verdünners erfolgte nach einer Abkühlzeit von 50 Minuten bei einer Temperatur von + 5° C. Die Glycerinendkonzentrationen betrugen 2, 4, 6, 8, 10 und 12 %. Es wurden Glycerinanpassungszeiten von 30 und 60 Minuten untersucht. -

In den Tabellen 1-12 sind sämtliche Einzelergebnisse mit ihren Median- und Quartilwerten aufgeführt.

Tab. 1 Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im IVT-Verdüner mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 30 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	10	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	CA 5	95	30	0	50	0	30	10	30	10	20	20	20	10
3	AA 2	95	50	10	40	5	30	20	30	30	20	20	20	20
4	TE 8	80	60	0	60	5	40	20	30	10	20	10	30	0
5	CA 4	95	40	20	30	5	10	5	5	5	5	0	5	5
6	PB 6	95	50	0	40	0	40	20	20	20	10	10	20	20
7	TE 7	95	80	0	75	0	75	0	50	0	50	20	30	0
8	AA 2	90	30	10	40	0	60	0	50	30	50	20	30	0
9	TE 8	95	80	10	70	10	75	20	50	10	40	0	40	0
10	CA 5	95	80	20	60	0	75	40	40	0	50	20	40	30
11	CA 4	95	80	10	70	30	70	10	40	30	20	20	40	40

Tab. 2 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im IVT-Verdünnern mit Glycerin

Äquilibrationszeit: 30 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	30	40	50	80	80
4 %	30	40	60	70	75
6 %	10	30	50	75	75
8 %	5	30	35	40	50
10 %	5	20	20	40	50
12 %	0	10	25	35	40

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	10	10	20	20
4 %	0	0	5	5	30
6 %	0	5	15	20	20
8 %	0	10	10	30	30
10 %	0	10	20	20	20
12 %	0	0	10	30	40

Tab. 3 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im IVT-Verdüner mit Glycerin
Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
 b: nach dem Auftauen
Äquilibrierungszeit: 60 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	40	0	20	0	5	0	5	0	0	0	0	0
2	CA 5	95	40	0	30	0	30	5	20	20	10	10	10	10
3	AA 2	95	20	0	10	0	10	10	0	0	5	0	0	0
4	TE 8	80	10	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	CA 4	95	50	0	20	0	20	10	10	10	5	5	5	5
6	PB 6	95	60	0	40	0	40	10	20	0	20	10	10	5
7	TE 7	95	50	0	20	0	0	0	10	0	0	0	0	0
8	AA 2	90	40	0	20	0	30	0	0	0	0	0	0	0
9	TE 8	95	60	0	40	0	30	0	0	0	0	0	0	0
10	CA 5	95	75	0	60	0	50	10	50	20	40	20	50	40
11	CA 4	95	85	0	75	10	75	0	60	0	40	0	0	0

Tab. 4 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im IVT-Verdüner mit Glycerin

Äquilibrierungszeit: 60 Minuten
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	10	40	50	60	85
4 %	5	20	25	40	75
6 %	0	5	25	40	75
8 %	0	0	10	20	60
10 %	0	0	5	20	40
12 %	0	0	0	10	40

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	0	0	0	0
4 %	0	0	0	0	10
6 %	0	0	5	10	10
8 %	0	0	0	10	20
10 %	0	0	0	10	20
12 %	0	0	0	5	40

Besprechung der Ergebnisse mit dem IVT-Verdünner

Bei Betrachtung der Konservierungsergebnisse mit dem IVT-Verdünner wird deutlich, daß die Länge der Glycerinanpassung und die Glycerinkonzentration einen wesentlichen Einfluß auf die Spermienmotilität bereits vor dem Einfrieren zeigt. Wie aus der Tabelle der Medianwerte hervorgeht, sind die Ergebnisse bei einer Glycerinäquilibration von 30 Minuten besser, als bei einer Anpassungszeit von 60 Minuten, ebenso nehmen die Medianwerte bei beiden Anpassungszeiten mit zunehmender Glycerinkonzentration ab.

Noch deutlicher zeigt sich der Einfluß der Äquilibrationszeit auf die Spermienvorwärtsbewegung nach dem Auftauen. Bei einer Anpassungszeit von 60 Minuten ist, gemessen an den Medianwerten, keine Vorwärtsbewegung mehr vorhanden, bei einer Anpassungszeit von 30 Minuten beträgt das Maximum 20 %.

Tab. 5 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im Lactose-Verdünnung mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 30 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	70	0	75	5	75	20	50	10	50	0	30	5
2	AA 2	95	70	0	65	0	70	10	40	0	50	5	0	0
3	TE 8	95	75	0	70	0	70	15	60	20	30	10	20	5
4	CA 5	95	65	5	60	0	50	30	20	10	5	5	5	5
5	CA 4	95	75	5	70	5	60	10	60	30	30	5	20	0
6	PB 6	95	60	0	80	0	50	10	40	10	25	10	20	5
7	TE 7	95	75	0	75	10	75	20	65	20	75	10	60	5
8	AA 2	90	70	0	75	10	65	0	50	5	50	0	20	0
9	TE 8	90	70	0	70	0	70	20	60	10	40	10	20	5
10	CA 5	90	70	10	70	20	60	40	40	30	10	10	10	0
11	CA 4	95	75	5	70	30	75	40	60	20	40	10	50	5
12	PB 6	95	80	0	75	0	75	5	40	10	30	5	25	5

Tab. 6 Mediane und Quartile der Spermiovorwärtsbewegung
vor und nach dem Einfrieren im Lactose-Verdünner
mit Glycerin

Äquilibrierungszeit: 30 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin- konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	60	70	70	75	75
4 %	60	70	70	75	75
6 %	50	60	70	75	75
8 %	20	40	50	60	65
10 %	10	25	30	50	75
12 %	0	15	20	25	60

Spermiovorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin- konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	0	0	10	5
4 %	0	0	0	10	30
6 %	0	10	15	30	30
8 %	0	10	15	30	30
10 %	0	5	5	10	10
12 %	0	0	0	5	5

Tab. 7
Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im Lactose-Verdünnser mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %)

a: vor dem Einfrieren b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 60 Minuten

Lfa. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	70	0	70	5	50	20	60	0	50	0	40	5
2	AA 2	95	75	0	75	0	70	10	30	0	40	0	20	5
3	TE 8	95	75	0	75	0	70	0	65	0	50	10	40	0
4	CA 5	95	75	10	70	40	60	40	10	10	0	0	10	0
5	CA 4	95	70	5	70	10	60	20	60	30	40	0	30	5
6	PB 6	95	75	0	60	10	70	5	50	0	50	10	20	0
7	TE 7	95	70	5	60	10	65	10	60	10	40	20	40	10
8	AA 2	90	75	10	70	0	70	10	30	5	20	0	0	0
9	TE 8	90	75	0	70	20	70	20	30	20	40	0	20	10
10	CA 5	90	75	10	65	20	60	40	10	10	20	20	5	5
11	CA 4	95	75	20	70	30	75	40	65	50	50	30	50	10
12	PB 6	95	70	0	65	5	70	10	50	20	50	30	20	5

Tab. 8 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im Lactose-Verdünnern mit Glycerin
Äquilibrationszeit: 60 Minuten
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	70	70	75	75	75
4 %	60	65	70	70	75
6 %	50	60	70	70	75
8 %	10	30	50	60	65
10 %	0	30	40	50	50
12 %	0	15	20	40	50

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	0	5	15	20
4 %	0	5	10	20	40
6 %	0	10	15	30	40
8 %	0	0	10	20	50
10 %	0	0	5	15	30
12 %	0	0	5	5	10

Besprechung der Ergebnisse mit dem Lactose-Verdünnern

Bei Betrachtung der Konservierungsergebnisse mit dem Lactose-Verdünnern wird deutlich, daß die Länge der Glycerinäquilibration bei allen Glycerinkonzentrationen wenig Einfluß auf die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren hat.

Bei Betrachtung der Auftauergebnisse wird jedoch deutlich, daß in diesem Verdünnern die längere Glycerinadaptation, gemessen an den Medianwerten, bessere Ergebnisse liefert. Die Maxima der Medianwerte liegen bei 15 %.

Tab. 9 Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
 TRIS-Verdünner mit Glycerin
 Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
 b: nach dem Auftauen
 Äquilibrierungszeit: 30 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	85	30	80	30	75	50	75	60	75	40	65	40
2	AA 2	80	60	40	65	30	70	50	60	30	50	30	50	20
3	TE 8	95	85	30	80	40	70	50	75	60	60	40	70	20
4	CA 5	95	80	20	75	30	50	50	50	50	30	30	20	20
5	CA 4	90	80	20	75	20	60	50	60	50	60	40	70	20
6	PB 6	90	75	30	75	40	65	60	60	40	60	40	50	40
7	TE 8	90	85	10	85	40	70	30	70	40	60	50	85	10
8	CA 5	95	75	30	75	40	60	50	60	40	40	30	30	30
9	TE 7	90	60	20	60	50	75	50	75	40	70	40	65	30
10	AA 2	90	85	20	85	30	70	50	70	50	60	40	60	30
11	CA 4	95	70	20	60	40	50	40	60	50	60	30	40	30
12	TE 7	90	60	30	70	10	75	30	75	40	50	50	50	0
13	AA 2	90	80	30	70	40	60	40	75	40	70	0	40	0
14	TE 8	95	85	40	80	30	75	65	70	50	50	20	70	30
15	CA 4	90	85	20	70	40	70	40	70	50	60	40	--	--
16	CA 5	90	75	40	75	40	60	40	60	50	50	40	40	40
17	PB 6	95	75	40	80	0	70	50	60	0	60	40	70	30
18	TE 8	95	80	20	75	40	75	40	70	40	70	30	50	30
19	TE 7	95	60	0	60	40	70	60	60	40	70	50	50	40
20	AA 2	95	80	50	75	60	65	50	65	40	50	40	40	10
21	CA 5	95	40	20	80	65	60	50	40	40	40	40	20	20
22	CA 4	95	75	30	75	30	70	40	65	50	60	50	75	20
23	PB 6	85	80	40	75	65	70	60	65	50	60	30	75	30

Tab. 10 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung
vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünnern mit
Glycerin

Äquilibrierungszeit: 30 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin- konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	40	70	80	75	80
4 %	60	70	75	75	80
6 %	50	60	70	70	75
8 %	40	60	65	70	75
10 %	30	50	60	65	75
12 %	20	40	50	75	85

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin- konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	20	30	30	40
4 %	10	30	40	40	65
6 %	30	40	50	50	65
8 %	0	40	40	50	60
10 %	0	30	40	40	50
12 %	0	20	20	30	50

Tab. 11

Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren

b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 60 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	85	40	80	50	70	50	70	60	60	50	60	30
2	AA 2	80	75	30	80	20	65	40	65	40	65	40	40	30
3	TE 8	95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
4	CA 5	95	--	--	--	--	65	50	--	--	40	30	40	30
5	CA 4	90	80	30	60	40	65	40	65	60	60	50	50	40
6	PB 6	90	--	--	75	20	60	40	--	--	--	--	--	--
7	TE 8	90	80	30	80	40	65	60	60	40	60	30	75	20
8	CA 5	95	85	40	85	40	65	50	50	30	40	40	30	30
9	TE 7	90	75	10	70	40	50	40	60	50	30	30	75	30
10	AA 2	90	40	30	40	40	50	50	60	40	40	30	40	40
11	CA 4	95	70	30	70	30	70	40	60	40	40	30	30	20
12	TE 8	95	85	30	80	40	70	40	75	40	70	30	60	20
13	TE 7	95	50	30	60	40	70	60	70	50	50	30	70	30
14	AA 2	95	30	10	40	30	60	50	60	40	40	40	40	10
15	CA 5	90	70	30	75	40	60	40	60	40	60	40	50	30
16	CA 4	95	80	50	85	50	75	60	75	40	70	40	40	30
17	PB 6	85	60	40	60	30	50	30	75	50	80	40	40	30
18	TE 7	90	75	40	75	60	70	30	60	50	65	40	60	50
19	AA 2	90	50	0	40	20	40	40	30	0	50	40	50	0
20	TE 8	95	70	40	65	40	75	60	70	0	75	50	60	0
21	CA 4	90	60	40	75	20	70	70	75	30	60	50	--	--
22	CA 5	90	80	40	70	65	60	40	40	30	20	20	40	30
23	PB 6	90	85	60	80	40	75	50	70	60	70	60	70	50

Tab. 12 Mediane und Quartile der Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Äquilibrationszeit: 60 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	30	65	75	80	85
4 %	40	60	75	80	85
6 %	40	60	65	75	80
8 %	40	60	60	65	75
10 %	20	40	55	65	80
12 %	30	40	45	60	75

Spermiovorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	30	30	40	60
4 %	20	30	40	45	65
6 %	30	40	40	50	60
8 %	0	35	40	50	60
10 %	20	30	40	50	60
12 %	0	20	30	30	50

Besprechung der Ergebnisse mit dem TRIS-Verdüner

Bei Betrachtung der Konservierungsergebnisse mit dem TRIS-Verdüner wird deutlich, daß die Medianwerte der Spermiovorwärtsbewegung vor dem Einfrieren mit zunehmender Glycerinkonzentration abnehmen. Bei der kürzeren Glycerinanpassungszeit liegen die Medianwerte insgesamt geringfügig höher als bei längerer Äquilibrationszeit.

Nach dem Auftauen liegen die höchsten Medianwerte von 40 und 50 % bei beiden Glycerinanpassungszeiten im Glycerinkonzentrationsbereich von 4 bis 10 %. Einflüsse der Glycerinanpassungszeiten auf den Konservierungserfolg sind in diesem Verdüner nicht erkennbar.

Besprechung der Ergebnisse über den Einfluß verschiedener Verdünnungsmedien auf die Spermienmotilität

Gemessen an den Ergebnissen der vorliegenden vergleichenden Untersuchung wird deutlich, daß zur Tiefgefrierung von Rüdensperma der TRIS-Verdüner den anderen beiden Medien - Lactose- und IVT-Verdüner - deutlich überlegen ist. Während sowohl im Lactose wie auch im IVT-Verdüner die höchsten Medianwerte bei 15 und 20 % lagen, betrugen sie im TRIS-Verdüner 40 und 50 %.

Bei dieser Betrachtung erscheinen IVT- und Lactose-Verdüner für die Rüdenspermakonservierung wenig geeignet, wenn auch die Medianwerte mit dem Lactose-Verdüner höher liegen als mit dem IVT-Verdüner.

Die Auftauergebnisse mit dem TRIS-Verdüner haben ihre besten Werte bei Glycerinkonzentrationen von 4 bis 10 %. Beim Vergleich der beiden Anpassungszeiten werden hinsichtlich der Medianwerte keine Unterschiede deutlich.

3.2.2 Einfluß unterschiedlicher Glycerinkonzentrationen und -äquilie- rungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner

Diese Untersuchungen wurden an den spermareichen Phasen von 41 Ejakulaten durchgeführt, wobei 23 Ejakulate aus der Versuchsreihe 3.2.1 mit einbezogen und nochmals in den Versuchsergebnissen aufgeführt wurden. Die Ejakulatgrößen lagen zwischen 0,012 und 1,092 Mill/mm³. Der Anteil der vorwärtsbeweglichen Spermien in den untersuchten Ejakulatsfraktionen bewegte sich zwischen 80 und 95 %.

In dieser Versuchsreihe wurde das Sperma jeweils 1 : 2 verdünnt. Die erste Verdünnung (1 : 1) erfolgte bei Zimmertemperatur. Der Zusatz des glycerinhaltigen Verdünners erfolgte nach einer Abkühlzeit von 50 Minuten bei einer Temperatur von + 5°C. Die Glycerinendkonzentrationen betrugen 2, 4, 6, 8, 10 und 12 %. Es wurden Glycerinanpassungszeiten von 0, 30, 60 und 90 Minuten untersucht.

In den Tabellen 13 bis 20 sind sämtliche Einzelergebnisse mit ihren Median- und Quartilwerten aufgeführt.

Tab. 14 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin
ohne Glycerinäquilibration,
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	30	80	85	85	90
4 %	20	80	80	85	90
6 %	75	75	80	80	85
8 %	65	70	75	80	80
10 %	50	65	70	75	75
12 %	20	60	60	70	75

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	10	10	30	40
4 %	10	15	30	40	50
6 %	0	20	30	40	70
8 %	5	20	40	40	50
10 %	10	10	30	40	50
12 %	0	10	20	30	40

Besprechung der Ergebnisse ohne Glycerinäquilibration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren ihr Maximum von 85 % bei der geringsten Glycerinkonzentration (2 %) hatten und daß mit steigender Glycerinkonzentration die Medianwerte kontinuierlich auf 60 % absanken.

Nach dem Auftauen lag der kleinste Medianwert von 10 % bei der geringsten Glycerinkonzentration (2 %). Mit zunehmenden Glycerinkonzentrationen verbesserten sich die Medianwerte bis auf 40 % bei einer 8 %igen Glycerinkonzentration. Eine weitere Steigerung der Glycerinkonzentration führte zu einem Abfall der Medianwerte bis auf 20 % (12 % Glycerin).

Tab. 15
Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin
Vorwärtsbewegung (V %)
a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen
Äquilibrierungszeit: 30 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Tab. 16 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin

Äquilibrierungszeit: 30 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	40	80	80	80	85
4 %	60	70	75	75	80
6 %	50	60	70	70	75
8 %	40	60	65	70	75
10 %	30	50	60	65	75
12 %	20	40	50	70	85

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	30	30	30	40
4 %	0	30	40	40	65
6 %	30	40	50	50	65
8 %	5	20	40	40	50
10 %	10	10	30	40	50
12 %	0	20	30	30	40

Besprechung der Ergebnisse bei einer Glycerinäquilibration von 30 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren ihr Maximum von 80 % bei einer Glycerinkonzentration von 2 % aufwiesen. Bei steigenden Glycerinkonzentrationen kam es zum Absinken der Medianwerte auf 50 % (12 % Glycerin).

Nach dem Auftauen lag der niedrigste Medianwert von 20 % bei einer Glycerinkonzentration von 2 %. Mit zunehmenden Glycerinkonzentrationen erhöhten sich die Medianwerte auf 50 % (6 % Glycerin) und sanken bei weiterer Steigerung der Glycerinkonzentrationen bis auf 12 % wieder ab auf 30 % Vorwärtsbeweglichkeit.

Tab. 17

Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 60 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	85	40	80	50	70	50	70	60	60	50	60	30
2	AA 2	80	75	30	80	50	65	40	65	40	65	40	40	30
3	TE 8	95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
4	CA 5	95	--	--	--	--	65	50	--	--	40	30	30	30
5	CA 4	90	80	30	60	40	65	40	65	40	60	50	50	40
6	PB 6	90	--	--	75	20	60	40	--	--	--	--	--	--
7	TE 8	90	80	30	80	40	65	60	60	40	50	30	75	20
8	CA 5	95	85	40	85	40	65	50	60	30	40	40	30	30
9	TE 7	90	75	10	70	40	50	40	50	40	30	30	40	40
10	AA 2	90	40	30	40	40	50	50	60	50	40	40	30	20
11	CA 4	95	70	30	70	30	70	40	60	40	70	30	60	20
12	TE 8	95	85	30	80	40	70	40	75	40	50	30	70	30
13	TE 7	95	50	30	60	40	70	60	70	50	50	30	60	20
14	AA 2	95	30	20	40	30	60	50	60	40	40	40	40	10
15	CA 5	90	70	30	75	40	60	40	60	40	60	50	30	20
16	CA 4	95	80	50	85	50	75	60	75	40	70	40	40	30
17	PB 6	85	60	40	60	30	50	40	75	50	80	40	75	30
18	TE 7	90	75	40	75	60	70	30	60	50	65	40	60	50
19	TE 8	95	70	40	65	40	75	60	70	0	75	50	60	0
20	AA 2	90	50	0	40	20	40	40	30	0	50	40	40	0
21	CA 4	90	60	40	75	20	70	70	75	30	60	50	--	--
22	CA 5	90	80	40	70	65	60	40	40	30	20	20	40	30
23	PB 6	90	85	60	80	40	75	50	70	60	70	60	70	50

Tab. 18 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Äquilibrierungszeit: 60 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	30	65	75	80	85
4 %	40	60	75	80	85
6 %	40	60	65	70	80
8 %	40	60	60	70	75
10 %	20	40	55	65	80
12 %	30	40	45	60	75

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	20	30	30	40
4 %	20	30	40	45	65
6 %	30	40	40	50	60
8 %	0	35	40	50	60
10 %	20	30	40	50	60
12 %	0	20	30	30	50

Besprechung der Ergebnisse bei einer Glycerinäquibrierung von 60 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren ihr Maximum von 75 % bei den niedrigen Glycerinkonzentrationen von 2 und 4 % hatten und mit steigenden Glycerinkonzentrationen kontinuierlich bis auf 45 % absanken.

Nach dem Auftauen betrug der höchste Medianwert 40 % in einem Glycerinkonzentrationsbereich von 4 bis 10 %, während bei 2 und 12 %iger Glycerinkonzentration Medianwerte von 30 % beobachtet wurden.

Tab. 19

Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdünnern mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Äquilibrationszeit: 90 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
1	TE 7	95	80	10	80	10	85	20	75	20	75	20	75	5
2	AA 2	90	80	10	80	5	70	10	70	10	70	5	65	0
3	TE 8	95	75	10	80	20	80	20	75	30	75	10	75	20
4	CA 5	95	85	0	85	5	85	20	75	20	60	10	50	10
5	CA 4	95	80	10	85	40	85	30	75	10	70	20	75	20
6	PB 6	95	80	10	75	10	70	10	50	10	50	10	70	5
7	TE 7	95	75	10	80	40	75	20	70	20	65	40	60	10
8	AA 2	90	80	20	75	40	70	30	65	40	60	10	60	10
9	TE 8	95	80	10	75	40	75	20	60	10	75	20	80	20
10	CA 5	95	80	20	80	30	70	30	40	30	40	30	50	20
11	CA 4	95	80	30	75	30	75	30	80	30	80	40	80	20
12	PB 6	95	--	--	75	30	70	30	70	20	80	40	75	20
13	TE 7	95	80	20	80	30	75	50	70	60	70	50	65	30
14	AA 2	90	75	30	75	40	70	50	75	40	75	40	60	30
15	TE 8	95	80	0	80	10	75	10	75	30	70	30	70	30
16	CA 5	95	80	0	80	0	65	0	65	30	40	40	40	40
17	CA 4	95	70	20	70	40	65	60	65	50	60	50	60	40
18	PB 6	95	85	30	80	30	75	50	75	65	75	40	50	20

Tab. 20 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin

Äquilibrierungszeit: 90 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	80	80	80	85
4 %	70	75	80	80	85
6 %	65	70	75	80	85
8 %	40	65	70	75	75
10 %	40	60	70	75	80
12 %	40	60	65	75	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	10	10	20	30
4 %	0	10	30	30	40
6 %	0	20	30	30	60
8 %	10	20	30	40	65
10 %	5	10	30	40	50
12 %	0	5	20	30	40

Besprechung der Ergebnisse bei einer Glycerinäquibrierung von 90 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren bei Glycerinkonzentrationen von 2 und 4 % mit 80 % am höchsten lagen und daß sie mit steigenden Glycerinkonzentrationen auf 65 % absanken (12 % Glycerin).

Nach dem Auftauen lagen die Medianwerte für Glycerinkonzentrationen von 4 bis 10 % einheitlich bei 30 %. Der niedrigste Medianwert von 10 % war bei der geringsten Glycerinkonzentration von 2 % zu finden, bei 12 % Glycerinanteil betrug er 20 %.

Besprechung der Ergebnisse über den Einfluß unterschiedlicher Glycerinkonzentrationen und -äquilibrierungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner

Gemessen an den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung wird deutlich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung mit steigenden Glycerinkonzentrationen kontinuierlich abnahmen, während dies bei den unterschiedlichen Äquilibrierungszeiten nicht so deutlich war. Die Medianwerte sanken zwar mit zunehmender Äquilibrierungszeit ab, bei einer Glycerinanpassungszeit von 60 Minuten wiesen sie ihre tiefsten Werte auf, bei weiterer Verlängerung auf 90 Minuten stiegen sie jedoch wieder an.

Beim Vergleich der unterschiedlichen Äquilibrierungszeiten ist zu erkennen, daß sowohl das Einfrieren unmittelbar nach der Glycerinzugabe als auch eine Äquilibrierungszeit von 90 Minuten hinsichtlich der Auftauergebnisse nicht sehr günstig ist. Dies zeigen die Medianwerte, die überwiegend bei 30 % Vorwärtsbewegung lagen. Dagegen bewegten sich die Medianwerte bei Äquilibrierungszeiten von 30 und 60 Minuten bei 40 %. Der höchste Medianwert von 50 % wurde bei einer 6 %igen Glycerinkonzentration und einer Äquilibrierungszeit von 30 Minuten gefunden.

3.2.3 Zugabe des Glycerins bei Zimmertemperatur und bei + 5° C

Diese Untersuchungen wurden an den spermareichen Phasen von 62 Ejakulaten durchgeführt. Die hohe Zahl der Ejakulate ergibt sich daraus, daß die Ejakulate, bei denen Glycerin bei + 5° C zugesetzt wurde, aus der Versuchsreihe 3.2.2 zum Vergleich herangezogen wurden. Um eine bessere Vergleichsmöglichkeit zu erreichen, sind diese Versuchsergebnisse noch einmal mit aufgeführt worden. Die Ejakulatgrößen lagen zwischen 0,8 und 6,0 ml, die Dichten zwischen 0,05 und 0,667 Mill/mm³. Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien in den untersuchten Ejakulaten bewegte sich zwischen 80 und 95 %.

In dieser Versuchsreihe wurde Glycerin sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei + 5° C zugesetzt, die Abkühlzeit betrug in jedem Fall 50 Minuten, das Verdünnungsverhältnis 1 : 2. Die erste Verdünnungsstufe wurde bei Zimmertemperatur hergestellt, die zweite Verdünnungsstufe mit glycerinhaltigem Verdünnern bei + 5° C. Erfolgte der Glycerinzusatz bei Zimmertemperatur, so wurde die endgültige Verdünnung von 1 : 2 bereits vor dem Abkühlen hergestellt. Die Glycerinendkonzentrationen betrugen 2, 4, 8, 10 und 12 %. Untersucht wurden Äquilibrierungszeiten von einer und eineinhalb Stunden. In der Versuchsanordnung, in der das Glycerin bei Zimmertemperatur zugegeben wurde, entsprach die Abkühlzeit bereits einer Äquilibrierung, so daß schließlich Äquilibrierungszeiten von 50 und 80 Minuten Zeiten von 60 und 90 Minuten in der vergleichenden Versuchsanordnung gegenübergestellt wurden. Die sich ergebende Zeitdifferenz von 10 Minuten hat kaum Einfluß auf das Konservierungsergebnis, so daß Vergleiche der Äquilibrierungszeiten von 50 und 60 Minuten sowie von 80 und 90 Minuten möglich sind.

Die Tabellen 21-28 enthalten sämtliche Einzelergebnisse mit ihren Median- und Quartilwerten.

Tab. 21

Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Glycerinzusatz bei Zimmertemperatur

Äquilibrationszeit: 50 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	75	30	80	30	80	40	75	40	70	30	60	20
2	AA 2	95	80	40	80	30	70	40	70	40	40	30	40	20
3	TE 8	95	85	20	80	50	80	40	75	30	70	30	75	20
4	CA 5	95	80	20	75	40	70	40	60	40	40	30	20	20
5	CA 4	95	80	40	75	40	70	50	75	40	75	30	80	20
6	TE 7	95	80	20	80	20	70	40	70	30	50	20	30	20
7	AA 2	90	75	40	75	40	80	20	60	30	60	20	40	10
8	TE 8	95	80	40	85	60	85	40	80	30	75	30	60	20
9	CA 5	95	85	30	75	40	80	40	50	30	60	30	50	30
10	CA 4	90	85	20	80	40	85	40	60	50	75	40	70	30
11	PB 6	95	80	20	75	60	75	50	70	50	40	30	30	20
12	TE 7	85	80	20	70	20	75	30	60	40	60	40	50	30
13	AA 2	80	60	10	75	30	75	40	75	30	65	20	60	20
14	TE 8	95	70	40	70	40	75	30	70	40	75	20	70	20
15	CA 5	95	80	30	80	30	75	20	75	30	60	40	60	10
16	CA 4	95	75	20	80	30	60	30	75	30	75	40	75	20
17	TE 7	95	85	10	80	20	75	40	80	40	75	50	75	20
18	AA 2	90	60	10	60	30	40	20	60	20	50	20	40	10
19	TE 8	95	80	20	80	40	80	60	75	30	65	20	50	20
20	CA 5	95	75	20	60	20	60	30	40	40	40	30	30	30
21	CA 4	95	85	30	80	20	70	40	70	30	60	20	50	10
22	PB 6	90	50	10	60	30	65	40	65	10	50	30	50	10

Tab. 22 Mediane und Quartile der Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin

Glycerinzusatz bei Zimmertemperatur

Äquilibrierungszeit: 50 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerinkonzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	50	75	80	80	85
4 %	60	75	75	80	85
6 %	40	70	75	80	85
8 %	40	60	75	80	80
10 %	40	50	60	75	75
12 %	20	40	50	65	80

Spermiovorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerinkonzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	10	20	20	30	40
4 %	20	30	30	40	60
6 %	20	30	40	40	60
8 %	10	30	30	40	50
10 %	20	20	30	30	50
12 %	10	20	20	20	30

Besprechung der Ergebnisse - Zusatz des Glycerins bei Zimmertemperatur - 50 Minuten Glycerinäquilibration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte für die Spermiovorwärtsbewegung vor dem Einfrieren ihren höchsten Wert (80 %) bei der 2 %igen Glycerinkonzentration aufwiesen und mit steigender Konzentration kontinuierlich auf 50 % abfielen. Nach dem Auftauen lag der Medianwert bei 2 %iger Glycerinkonzentration bei 20 %, erhöhte sich auf 40 % bei 6 % Glycerin und sank danach wieder auf 20 % ab (12 % Glycerin).

Tab. 23

Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdünnern mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Glycerinzusatz bei Zimmertemperatur

Äquilibrationszeit: 80 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	80	30	80	40	80	40	80	40	75	30	70	20
2	AA 2	95	85	30	75	40	75	40	70	40	60	20	40	10
3	TE 8	95	80	40	80	30	80	30	75	40	70	30	20	10
4	CA 5	95	80	30	80	20	75	40	70	30	30	30	10	10
5	CA 4	95	80	30	80	40	80	70	80	50	70	20	70	20
6	TE 7	95	70	20	75	20	60	20	50	40	40	20	20	10
7	AA 2	90	80	10	80	10	75	20	40	10	40	10	20	5
8	TE 8	95	85	20	85	30	80	30	60	50	70	40	60	10
9	CA 5	95	75	30	70	30	75	40	50	40	40	40	20	20
10	CA 4	90	85	20	80	50	70	50	60	40	70	40	60	5
11	PB 6	95	75	10	85	30	85	40	70	30	40	20	30	5
12	TE 7	95	75	20	75	20	70	30	70	20	75	30	70	10
13	AA 2	80	75	10	70	20	70	20	60	20	65	40	60	10
14	TE 8	95	80	10	75	10	80	30	75	40	75	20	70	5
15	CA 5	95	75	20	75	10	80	20	70	20	70	30	40	10
16	CA 4	95	80	10	80	10	70	20	75	20	60	20	60	10
17	TE 7	95	75	10	75	20	75	30	75	20	80	40	60	20
18	AA 2	90	50	5	70	20	60	20	65	20	60	20	40	5
19	TE 8	95	85	30	80	40	75	10	75	20	60	30	50	10
20	CA 5	95	50	20	65	20	70	40	40	40	40	40	15	10
21	CA 4	95	80	10	80	30	75	20	70	40	70	20	60	10
22	PB 6	90	65	10	75	30	60	20	50	30	50	20	40	20

Tab. 24 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin
Glycerinzusatz bei Zimmertemperatur
Äquilibrierungszeit: 80 Minuten
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	50	75	80	80	85
4 %	65	75	75	80	85
6 %	60	70	75	80	85
8 %	40	60	70	75	80
10 %	30	40	60	70	80
12 %	10	20	45	60	70

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	5	10	20	30	40
4 %	10	20	25	30	50
6 %	10	20	30	40	70
8 %	10	20	40	40	70
10 %	10	20	25	30	50
12 %	5	10	10	10	20

Besprechung der Ergebnisse - Zusatz des Glycerins bei Zimmertemperatur - Äquilibrierungszeit 80 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte für die Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren ihr Maximum von 80 % bei der 2 %igen Glycerinkonzentration aufwiesen und mit steigender Glycerinkonzentration kontinuierlich auf 45 % abfielen.

Nach dem Auftauen erhöhten sich die Medianwerte mit steigenden Glycerinkonzentrationen bis zu 40 % bei 8 % Glycerin. Die weitere Erhöhung der Glycerinkonzentration bewirkte einen deutlichen Abfall der Medianwerte auf 10 % bei 12 % Glycerin.

Tab. 25

Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Glycerinzusatz bei + 5° C

Äquilibrationszeit: 60 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	85	40	80	50	70	50	70	60	60	50	60	30
2	AA 2	80	75	30	80	50	65	40	65	40	65	40	40	30
3	TE 8	95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
4	CA 5	95	--	--	--	--	65	50	--	--	40	30	30	30
5	CA 4	90	80	30	60	40	65	40	65	60	60	50	50	40
6	PB 6	90	--	--	75	20	60	40	--	--	--	--	--	--
7	TE 8	90	80	30	80	40	65	50	60	40	50	30	75	20
8	CA 5	95	85	40	85	40	65	50	60	30	40	40	30	30
9	TE 7	90	75	10	70	40	50	40	50	40	40	30	75	30
10	AA 2	90	40	30	40	40	50	50	60	50	30	30	40	40
11	CA 4	95	70	30	70	30	70	40	60	40	40	30	30	20
12	TE 8	95	85	30	80	40	70	40	75	40	70	30	60	20
13	TE 7	95	50	30	60	40	70	60	70	50	50	30	70	30
14	AA 2	95	30	20	40	30	60	50	60	40	40	40	40	10
15	CA 5	90	70	30	75	40	60	40	60	40	60	50	30	20
16	CA 4	95	80	50	85	50	75	60	75	40	70	40	40	30
17	PB 6	85	60	40	60	30	50	40	75	50	80	40	75	30
18	TE 7	90	75	40	75	60	70	30	60	50	65	40	60	50
19	TE 8	95	70	40	65	40	75	60	70	0	75	50	60	0
20	AA 2	90	50	0	40	20	40	40	30	0	50	40	40	0
21	CA 4	90	60	40	75	20	70	70	75	30	60	50	--	--
22	CA 5	90	80	40	70	65	60	40	40	30	20	20	40	30
23	PB 6	90	85	60	80	40	75	50	70	60	70	60	70	50

Tab. 26 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Glycerinzusatz bei + 5° C

Äquilibrierungszeit: 60 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	30	65	75	80	85
4 %	40	60	75	80	85
6 %	40	60	65	70	80
8 %	40	60	60	70	75
10 %	20	40	55	65	80
12 %	30	40	45	60	75

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	20	30	30	40
4 %	20	30	40	45	65
6 %	30	40	40	50	60
8 %	0	35	40	50	60
10 %	20	30	40	50	60
12 %	0	20	30	30	50

Besprechung der Ergebnisse - Zusatz des Glycerins bei + 5° C - Äquilibrierungszeit 60 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren ihr Maximum von 75 % bei den niedrigen Glycerinkonzentrationen von 2 und 4 % hatten und mit steigenden Glycerinkonzentrationen kontinuierlich bis auf 45 % absanken.

Nach dem Auftauen betrug der höchste Medianwert 40 % in einem Glycerinkonzentrationsbereich von 4 bis 10 %, während bei 2 und 12 %iger Glycerinkonzentration Medianwerte von 30 % beobachtet wurden.

Tab. 27

Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Glycerinzusatz bei + 5° C

Äquilibrationszeit: 90 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	2 % Gly		4 % Gly		6 % Gly		8 % Gly		10 % Gly		12 % Gly	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	80	10	80	10	85	20	75	20	75	20	75	5
2	AA 2	90	80	10	80	5	70	10	70	10	70	5	65	0
3	TE 8	95	75	10	80	20	80	20	75	30	75	10	75	20
4	CA 5	95	85	0	85	5	85	20	75	20	60	10	50	10
5	CA 4	95	80	10	85	40	85	30	75	10	70	20	75	20
6	PB 6	95	80	10	75	10	70	10	70	10	50	10	70	5
7	TE 7	95	75	10	80	40	75	20	70	20	65	40	60	10
8	AA 2	90	80	20	75	40	70	30	65	40	60	10	60	10
9	TE 8	95	80	10	75	40	75	20	60	10	75	20	80	20
10	CA 5	95	80	20	80	30	70	30	40	30	40	30	50	20
11	CA 4	95	80	30	75	30	75	30	80	30	80	40	80	20
12	PB 6	95	--	--	75	30	70	30	70	20	80	40	75	20
13	TE 7	95	80	20	80	30	75	50	70	60	70	50	65	30
14	AA 2	90	75	30	75	40	70	50	75	40	75	40	60	30
15	TE 8	95	80	0	80	10	75	10	75	30	70	30	70	30
16	CA 5	95	80	0	80	0	65	0	65	30	40	40	40	40
17	CA 4	95	70	20	70	40	65	60	65	50	60	50	60	40
18	PB 6	95	85	30	80	30	75	50	75	65	75	40	50	20

Tab. 28 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit Glycerin

Glycerinzusatz bei + 5° C

Äquilibrierungszeit: 90 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	80	80	80	85
4 %	70	75	80	80	85
6 %	65	70	75	80	85
8 %	40	65	70	75	75
10 %	40	60	70	75	80
12 %	40	60	65	75	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
Glycerin-konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
2 %	0	10	10	20	30
4 %	0	10	30	30	40
6 %	0	20	30	30	60
8 %	10	20	30	40	65
10 %	5	10	30	40	50
12 %	0	5	20	30	40

Besprechung der Ergebnisse - Zusatz des Glycerins bei + 5° C - Äquilibrierungszeit 90 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren bei Glycerinkonzentrationen von 2 und 4 % mit 80 % am höchsten lagen und daß sie mit steigenden Glycerinkonzentrationen auf 65 % absanken (12 % Glycerin).

Nach dem Auftauen lagen die Medianwerte für Glycerinkonzentrationen von 4 bis 10 % einheitlich bei 30 %. Der niedrigste Medianwert von 10 % war bei der geringsten Glycerinkonzentration von 2 % zu finden, bei 12 % Glycerinanteil betrug er 20 %.

Besprechung der Ergebnisse - Zugabe des Glycerins bei Zimmer- temperatur und bei + 5° C

Bei Betrachtung der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung kann festgestellt werden, daß ein Absinken der Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren in beiden Versuchsreihen ähnlich wie in Versuch 3.2.2 zu beobachten ist.

Die Temperatur, bei der der Glycerinzusatz erfolgt, hat vor dem Einfrieren, auch im Hinblick auf die unterschiedlichen Äquilibrierungszeiten, keinen deutlich erkennbaren Einfluß auf die Spermienmotilität.

Nach dem Auftauen liegt keiner der Medianwerte über 40 %. Das beste Ergebnis mit einer Häufung des Medianwertes 40 % wurde erzielt bei Glycerinkonzentrationen von 4 bis 10 %, wenn Glycerin bei + 5° C zugegeben wurde und die Äquilibrierungszeit 60 Minuten betrug. Gleiche Medianwerte von 40 % traten ebenfalls auf, wenn Glycerin bei Zimmertemperatur zugesetzt wurde, die Konzentration 6 % und die Äquilibrierungszeit 50 Minuten betrug sowie bei 8 % Glyceringehalt und 80 Minuten Äquilibrierungszeit.

3.2.4 Einfluß unterschiedlicher DMSO-Konzentrationen und -äquilibrierungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner

Aufgrund der guten Ergebnisse, die LAIBLIN (1974) mit DMSO bei der Tiefgefrierung von Kaninchensperma erzielt hatte, sollte die Eignung des DMSO auch bei der Tiefgefrierkonservierung von Rüdensperma untersucht werden.

An fünf Ejakulaten wurden in einem Vorversuch DMSO-Endkonzentrationen von 2, 4, 6, 8, 10 und 12 % untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß bei Endkonzentrationen von mehr als 4 % DMSO nach dem Auftauen keine Spermienvorwärtsbewegung mehr vorhanden war. Deshalb wurden für die weiteren Untersuchungen DMSO-Endkonzentrationen von 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 und 3,0 % gewählt.

Die Untersuchungen wurden an den spermareichen Phasen von 23 Ejakulaten durchgeführt. Die Ejakulatgrößen betrugen 0,3 bis 5,7 ml, die Dichten lagen zwischen 0,087 und 0,9 Mill/mm³. Der prozentuale Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien lag zwischen 90 und 95 %.

Die Zugabe des DMSO erfolgte bei Zimmertemperatur, das Verdünnungsverhältnis betrug 1 : 2 und die Abkühlzeit auf + 5° C 50 Minuten. Eingefroren wurde nach vier verschiedenen Wartezeiten (0, 30, 60 und 90 Minuten), die nicht der Äquilibrierungszeit entsprechen, da in diesem Fall die Abkühlzeit von 50 Minuten mit einbezogen werden muß und sich endgültige Äquilibrierungszeiten von 50, 80, 110 und 140 Minuten für das DMSO ergeben.

Die Tabellen 29-36 enthalten sämtliche Einzelergebnisse mit ihren Median- und Quartilwerten.

Tab. 29

Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit DMSO

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren

b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 50 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,5 % DMSO		1,0 % DMSO		1,5 % DMSO		2,0 % DMSO		2,5 % DMSO		3,0 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	85	5	75	10	70	20	70	20	65	5	60	0
2	AA 2	95	80	30	80	30	75	20	70	40	75	30	70	10
3	TE 8	95	85	10	80	25	75	15	75	30	65	30	60	10
4	CA 5	90	85	5	85	10	80	30	75	30	75	10	60	5
5	CA 4	95	85	5	80	10	75	20	75	30	70	30	70	20
6	TE 7	95	80	20	85	30	80	15	80	15	80	20	75	15
7	AA 2	90	85	10	85	10	80	25	80	20	75	10	75	5
8	TE 8	95	90	10	85	10	85	10	80	10	75	15	75	10
9	CA 5	95	85	20	80	15	80	15	80	25	80	15	70	10
10	PB 6	95	80	5	80	10	75	10	75	10	75	5	70	10
11	CA 4	95	90	10	85	25	85	30	85	20	80	20	75	15
12	TE 7	95	85	15	85	15	85	20	80	15	80	30	80	5
13	AA 2	90	80	10	80	15	75	15	75	15	75	15	70	20
14	TE 8	95	90	15	85	20	85	15	75	10	75	15	70	30
15	CA 5	95	80	10	80	10	80	15	75	15	75	15	75	15
16	CA 4	95	90	20	85	30	85	15	80	15	75	10	75	15
17	PB 6	95	85	10	85	20	85	20	85	15	80	20	80	5
18	TE 7	95	80	10	85	15	85	5	85	10	80	5	80	5
19	AA 2	90	80	10	80	10	80	15	75	20	75	10	75	5
20	TE 8	85	85	15	85	10	85	30	80	20	80	10	75	10
21	CA 5	95	85	15	80	10	80	15	80	20	80	15	75	15
22	CA 4	95	85	15	90	15	85	15	85	30	80	15	80	10
23	PB 6	90	80	10	85	10	80	20	75	15	70	15	70	5

Tab. 30 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünnern mit DMSO

Äquilibrationszeit: 50 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentr.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,5 %	80	80	85	85	90
1,0 %	75	80	85	85	90
1,5 %	70	75	80	85	85
2,0 %	70	75	80	80	85
2,5 %	65	75	75	80	80
3,0 %	60	75	75	75	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentr.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,5 %	5	10	20	15	30
1,0 %	10	10	15	20	30
1,5 %	5	15	15	20	30
2,0 %	10	15	20	25	30
2,5 %	5	10	15	20	30
3,0 %	0	5	10	15	30

Besprechung der Ergebnisse bei einer DMSO-Äquilibration von 50 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren ihren höchsten Wert von 85 % bei den DMSO-Konzentrationen von 0,5 und 1,0 % aufweisen. Mit steigenden DMSO-Konzentrationen sanken die Medianwerte geringgradig, jedoch kontinuierlich auf 75 % ab.

Nach dem Auftauen betrug der Medianwert bei einer 0,5 %igen DMSO-Konzentration 10 %, mit steigender DMSO-Konzentration erhöhten sich die Medianwerte, erreichten bei 2 % DMSO ihr Maximum, um bei 3 % DMSO wieder auf 10 % abzufallen.

Tab. 31

Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdünner mit DMSO

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren

b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 80 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ Präp.	0,5 % DMSO		1,0 % DMSO		1,5 % DMSO		2,0 % DMSO		2,5 % DMSO		3,0 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	90	5	90	20	85	15	80	15	75	5	75	5
2	AA 2	90	80	15	80	20	80	10	85	15	80	15	80	15
3	TE 8	95	85	5	85	20	80	10	80	15	80	40	70	10
4	CA 5	95	90	15	85	10	85	10	80	20	75	20	75	20
5	CA 4	95	90	5	85	15	85	30	80	15	75	10	75	10
6	PB 6	90	80	5	80	20	75	10	70	30	70	20	60	10
7	TE 7	95	85	20	85	20	80	10	75	20	75	30	75	20
8	AA 2	90	85	10	80	20	80	20	80	20	75	15	65	10
9	TE 8	95	90	15	85	20	85	20	80	40	80	20	70	20
10	CA 5	95	85	15	80	20	80	20	75	30	75	20	70	10
11	CA 4	95	85	30	85	20	80	20	80	30	75	30	75	15
12	TE 7	95	80	15	85	10	80	15	80	10	75	20	75	14
13	AA 2	90	85	15	85	10	85	15	80	15	75	10	70	10
14	TE 8	95	85	10	85	5	80	15	80	10	75	10	70	5
15	CA 5	95	80	10	85	20	85	20	80	15	80	25	80	15
16	PB 6	95	80	10	80	30	75	10	75	10	70	10	70	5
17	TE 7	95	80	5	75	5	70	40	70	20	65	10	60	10
18	AA 2	95	85	20	80	5	80	15	70	15	70	30	65	10
19	TE 8	95	85	20	85	40	80	30	75	20	75	20	75	20
20	CA 5	95	80	10	80	30	75	10	75	30	70	30	70	30
21	CA 4	95	90	30	85	30	75	30	70	20	65	30	60	30
22	CA 4	95	90	10	85	20	85	15	80	15	80	25	75	15

Tab. 32 Mediane und Quartile der Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünnern mit DMSO

Äquilibrierungszeit: 80 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,5 %	80	80	85	90	90
1,0 %	75	80	85	85	90
1,5 %	70	80	80	85	85
2,0 %	70	75	80	80	85
2,5 %	65	70	75	80	80
3,0 %	60	70	70	75	80

Spermiovorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,5 %	5	10	10	20	30
1,0 %	5	10	20	20	40
1,5 %	10	10	15	20	40
2,0 %	10	15	15	30	30
2,5 %	5	10	20	30	40
3,0 %	5	10	15	20	30

Besprechung der Ergebnisse bei einer DMSO-Äquilibrierung von 80 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermiovorwärtsbewegung vor dem Einfrieren ihr Maximum von 85 % bei den DMSO-Konzentrationen von 0,5 und 1,0 % aufwiesen. Mit steigenden Konzentrationen fielen sie kontinuierlich ab und erreichten bei 3 % DMSO mit 70 % Vorwärtsbewegung ihr Minimum.

Nach dem Auftauen zeigten die Medianwerte zwei Maxima von 20 % bei DMSO-Konzentrationen von 1,0 und 2,5 %, der kleinste Medianwert lag bei 0,5 % DMSO. In den mittleren wie auch bei der höchsten DMSO-Konzentration betrugen die Medianwerte 15 %.

Tab. 33 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit DMSO

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 110 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,5 % DMSO		1,0 % DMSO		1,5 % DMSO		2,0 % DMSO		2,5 % DMSO		3,0 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	85	0	85	10	85	15	80	15	80	10	75	10
2	AA 2	90	80	30	80	10	80	20	75	5	70	5	70	5
3	TE 8	95	85	30	80	5	80	20	75	30	75	15	70	20
4	CA 5	95	90	20	85	15	85	20	80	10	75	30	75	20
5	CA 4	95	85	20	75	10	80	40	75	15	75	20	70	20
6	PB 6	90	85	5	75	0	75	5	75	15	70	5	60	10
7	TE 7	95	85	20	85	20	80	20	75	20	75	15	75	15
8	AA 2	90	80	20	80	20	75	20	75	20	75	15	70	15
9	TE 8	95	85	15	85	15	80	30	80	30	75	20	65	20
10	CA 5	95	80	10	80	20	75	30	75	15	75	15	70	15
11	CA 4	95	85	15	85	20	80	30	75	40	75	20	70	15
12	PB 6	95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
13	TE 7	95	90	10	85	25	80	15	80	20	75	10	70	10
14	AA 2	90	85	10	80	10	75	15	75	10	80	30	70	10
15	TE 8	95	85	15	85	15	80	30	80	20	75	15	75	15
16	CA 5	95	90	10	90	10	85	15	85	20	80	15	80	15
17	PB 6	95	80	5	85	10	80	10	80	10	75	30	70	10
18	CA 4	95	85	10	85	20	80	20	80	30	75	25	75	15
19	TE 7	95	85	10	85	15	80	20	75	30	75	20	65	10
20	AA 2	95	85	5	80	20	80	30	75	30	75	15	70	15
21	TE 8	95	85	5	80	15	75	20	70	30	70	30	70	30
22	CA 5	95	75	5	75	5	75	30	70	25	70	25	65	20
23	CA 4	95	80	15	85	10	80	20	70	20	65	20	65	15

Tab. 34 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit DMSO
 Äquilibrierungszeit: 110 Minuten
 Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,5 %	75	80	85	85	90
1,0 %	75	80	85	85	90
1,5 %	75	75	80	80	85
2,0 %	70	75	75	80	85
2,5 %	65	70	75	75	80
3,0 %	60	65	70	75	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,5 %	0	5	10	20	30
1,0 %	0	10	15	20	25
1,5 %	5	15	20	30	40
2,0 %	5	15	20	30	40
2,5 %	5	15	20	25	30
3,0 %	5	10	15	20	30

Besprechung der Ergebnisse bei einer DMSO-Äquilibrierung von 110 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren ihr Maximum von 85 % bei den DMSO-Konzentrationen von 0,5 und 1,0 % aufwiesen. Mit steigenden Konzentrationen fielen sie kontinuierlich ab, bei 3 % DMSO betrug der Medianwert nur noch 70 %.

Nach dem Auftauen lag der niedrigste Wert von 10 % bei einer DMSO-Konzentration von 0,5 %. Im Konzentrationsbereich von 1,5 bis 2,5 % waren die höchsten Medianwerte von 20 % zu beobachten. Bei der 3 %igen DMSO-Konzentration fiel der Medianwert wieder auf 15 % ab.

Tab. 35

Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit DMSO

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Äquilibrierungszeit: 140 Minuten, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,5 % DMSO		1,0 % DMSO		1,5 % DMSO		2,0 % DMSO		2,5 % DMSO		3,0 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	85	5	80	5	80	10	75	10	70	20	70	20
2	AA 2	95	80	15	75	15	75	10	80	20	75	15	70	20
3	TE 8	95	80	10	80	5	75	5	70	20	75	30	70	20
4	CA 5	95	80	15	75	5	65	15	65	15	60	15	60	20
5	CA 4	95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
6	TE 7	95	85	10	85	10	80	15	80	15	75	20	70	15
7	AA 2	90	80	10	80	15	80	15	75	15	70	15	65	15
8	TE 8	95	85	10	85	10	80	15	80	20	80	20	--	--
9	CA 5	95	80	15	85	15	80	30	80	20	80	20	80	15
10	PB 6	95	85	10	85	20	80	15	80	15	75	10	75	10
11	CA 4	95	90	20	85	20	85	25	80	25	80	30	75	15
12	TE 7	95	80	10	75	20	75	20	80	20	75	15	75	15
13	AA 2	90	70	15	75	30	70	30	80	10	70	15	70	15
14	TE 8	95	80	5	80	20	80	20	75	20	75	25	70	20
15	CA 5	95	75	10	80	15	75	20	70	20	70	20	65	20
16	CA 4	95	85	10	80	30	75	30	75	15	75	15	70	20
17	PB 6	95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
18	TE 7	95	85	5	80	10	80	5	80	10	75	15	75	10
19	AA 2	90	80	5	75	15	75	10	70	10	70	10	65	5
20	TE 8	95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
21	CA 5	95	75	5	85	10	80	15	75	15	75	15	70	20
22	CA 4	95	75	10	80	15	75	15	75	10	70	20	70	10
23	PB 6	90	80	5	75	5	75	5	70	10	70	20	60	15

Tab. 36 Mediane und Quartile der Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO

Äquilibrierungszeit: 140 Minuten

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,5 %	70	80	80	85	90
1,0 %	75	75	80	85	85
1,5 %	65	75	75	80	85
2,0 %	60	70	75	80	80
2,5 %	60	70	75	75	80
3,0 %	60	65	70	75	80

Spermiovorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,5 %	5	5	10	10	15
1,0 %	5	10	15	20	30
1,5 %	5	10	15	20	30
2,0 %	10	10	15	20	20
2,5 %	10	15	15	20	30
3,0 %	5	10	15	20	20

Besprechung der Ergebnisse bei einer DMSO-Äquilibration von 140 Minuten

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren ihr Maximum von 80 % bei DMSO-Konzentrationen von 0,5 und 1,0 % hatten. Von 1,5 bis 2,5 % DMSO betrugen die Medianwerte 75 %, das Minimum von 70 % lag bei der 3 %igen DMSO-Konzentration.

Nach dem Auftauen lag der niedrigste Medianwert von 10 % bei der kleinsten DMSO-Konzentration, während bei allen anderen DMSO-Konzentrationen gleichbleibende Medianwerte von 15 % zu beobachten waren.

Besprechung der Ergebnisse über den Einfluß unterschiedlicher DMSO-Konzentrationen und -äquilibrierungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner

Bei Betrachtung der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung wird deutlich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren mit steigenden DMSO-Konzentrationen geringgradig, jedoch kontinuierlich abfielen. Es konnte aber beobachtet werden, daß DMSO insgesamt gesehen einen relativ geringen Einfluß auf die Spermienmotilität vor dem Einfrieren ausübt. Dies betrifft sowohl die DMSO-Konzentrationen als auch die Äquilibrierungszeiten.

Nach dem Auftauen lagen sämtliche Medianwerte im Bereich von 10 bis 20 %. Die besten Ergebnisse wurden im mittleren DMSO-Konzentrationsbereich und bei einer Äquilibrierungszeit von 60 Minuten beobachtet.

3.2.5 Prüfung kombinierter Zusätze von DMSO und Glycerin in der Rüdenspermatiefgefrierung

In dieser Versuchsreihe sollte geprüft werden, ob die Kombination verschiedener DMSO-Konzentrationen mit verschiedenen Glycerinkonzentrationen Vorteile für den Konservierungserfolg bringt.

In Vorversuchen mit der Kombination DMSO-Glycerin war deutlich geworden, daß bereits DMSO-Konzentrationen von 1,5 % in Verbindung mit Glycerin eine Verminderung der Spermienmotilität bewirken. Daher wurden in dieser Versuchsreihe folgende Konzentrationsbereiche ausgewählt und jeweils miteinander kombiniert:

DMSO: 0,33 %, 0,66 %, 0,99 %, 1,33 %

Glycerin: 4 %, 6 %, 8 %, 10 %

Die Untersuchung wurde an den spermareichen Phasen von 23 Ejakulaten durchgeführt, deren Größen sich zwischen 1,0 und 8,3 ml bewegten. Die Dichten lagen zwischen 0,08 und 0,4 Mill/mm³ und ihre Vorwärtsbeweglichkeit betrug 90 bis 95 %.

Die DMSO-Zugabe erfolgte bei Zimmertemperatur, das Glycerin wurde bei + 5° C zugesetzt. Die Abkühlzeit betrug 50 Minuten und nach einer Glycerin-Äquilibrierungszeit von 60 Minuten (DMSO-Äquilibrierung 110 Minuten) wurde das Sperma eingefroren.

Die Tabellen 37-44 enthalten sämtliche Einzelergebnisse mit ihren Median- und Quartilwerten.

Tab. 37 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin und DMSO
Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen
Glycerinkonzentration: 4 %, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	75	30	80	30	75	50	60	30
2	AA 2	90	70	40	60	40	50	40	40	40
3	TE 8	95	70	40	50	50	40	30	70	30
4	CA 5	95	80	40	75	50	70	50	75	40
5	CA 4	95	60	40	50	40	60	40	50	30
6	PB 6	95	75	50	75	30	80	20	75	20
7	TE 7	95	80	60	80	60	70	40	70	50
8	AA 2	95	40	40	60	40	70	60	60	40
9	TE 8	95	70	50	70	50	75	30	75	50
10	CA 5	95	80	40	70	40	75	50	85	40
11	CA 4	95	80	40	70	60	75	70	75	60
12	PB 6	90	75	40	80	40	80	60	80	30
13	TE 7	95	70	50	70	50	75	40	75	40
14	AA 2	95	60	20	40	40	30	20	50	30
15	TE 8	95	70	50	70	50	75	60	80	50
16	CA 5	95	75	40	70	40	80	40	75	40
17	CA 4	95	80	40	80	50	75	50	80	40
18	PB 6	95	75	50	75	60	80	60	75	40
19	TE 7	95	75	40	75	60	75	50	70	40
20	AA 2	95	75	50	70	40	80	50	80	50
21	TE 8	95	60	30	70	40	80	30	75	40
22	CA 5	95	70	40	60	40	75	40	80	30
23	CA 4	95	85	40	80	10	80	50	80	50

Tab. 38 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin und DMSO

Glycerinkonzentration: 4 %

Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	40	70	75	80	85
0,66 %	40	65	70	75	80
0,99 %	30	70	75	75	80
1,33 %	40	70	75	80	85

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	20	40	40	50	60
0,66 %	10	40	40	50	60
0,99 %	20	40	50	55	60
1,33 %	20	30	40	50	60

Besprechung der Ergebnisse mit einer Glycerinkonzentration von 4 %

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren einheitlich bei 75 % lagen, nur bei einer DMSO-Konzentration von 0,66 % betrug der Medianwert 70 %.

Nach dem Auftauen konnte der höchste Medianwert von 50 % bei einer DMSO-Konzentration von 0,99 % beobachtet werden, bei allen anderen Konzentrationen betrug der Medianwert 40 %.

Tab. 39 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin und DMSO
Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
 b: nach dem Auftauen
Glycerinkonzentration: 6 %, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	80	50	80	40	85	40	85	20
2	AA 2	90	70	50	75	30	80	30	75	40
3	TE 8	95	80	40	70	50	85	40	80	40
4	CA 5	95	70	20	70	20	80	40	75	20
5	CA 4	95	75	50	75	40	80	50	70	50
6	PB 6	95	80	40	80	60	80	30	75	50
7	TE 7	95	75	60	85	50	80	40	75	30
8	AA 2	95	75	50	75	40	80	40	80	40
9	TE 8	95	70	60	80	50	80	40	80	30
10	CA 5	95	60	40	75	50	80	40	80	40
11	CA 4	95	80	70	85	60	75	60	80	50
12	PB 6	90	75	50	80	50	80	20	75	40
13	TE 7	95	80	50	85	40	75	60	75	60
14	AA 2	95	75	40	80	40	75	50	80	30
15	TE 8	95	70	50	75	60	80	60	80	40
16	CA 5	95	85	60	75	70	80	40	80	40
17	CA 4	95	75	40	80	60	80	40	80	50
18	PB 6	95	75	40	70	50	80	40	80	50
19	TE 7	95	80	40	85	70	85	70	80	30
20	AA 2	95	80	30	75	30	80	50	75	40
21	TE 8	95	75	40	80	40	85	40	85	40
22	CA 5	95	70	40	70	60	70	60	75	50
23	CA 4	95	75	50	80	40	80	60	75	50

Tab. 40 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin und DMSO

Glycerinkonzentration: 6 %
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	60	75	75	80	85
0,66 %	70	75	80	80	85
0,99 %	70	80	80	80	85
1,33 %	70	75	80	80	85

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	20	40	50	50	70
0,66 %	20	40	50	60	70
0,99 %	20	40	40	60	70
1,33 %	20	35	40	50	60

Besprechung der Ergebnisse mit einer Glycerinkonzentration von 6 %

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren bei Konzentrationen von 0,66 bis 1,33 % DMSO 80 % betrugen, nur bei der DMSO-Konzentration von 0,33 % lag der Medianwert mit 75 % geringfügig kleiner.

Nach dem Auftauen lagen die höchsten Medianwerte von 50 % bei DMSO-Konzentrationen von 0,33 und 0,66 %. Bei den höheren DMSO-Konzentrationen sanken die Medianwerte auf 40 % ab.

Tab. 41 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit Glycerin und DMSO
Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
 b: nach dem Auftauen
Glycerinkonzentration: 8 %, Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	75	40	70	40	75	40	80	40
2	AA 2	90	60	50	70	40	50	40	75	40
3	TE 8	95	75	40	75	40	85	50	80	40
4	CA 5	95	75	50	60	50	75	30	70	30
5	CA 4	95	60	50	70	40	75	50	75	30
6	PB 6	95	70	30	80	40	75	30	80	30
7	TE 7	95	80	70	80	50	75	60	70	50
8	AA 2	95	70	30	75	40	75	40	75	40
9	TE 8	95	75	50	80	50	85	60	75	40
10	CA 5	95	40	40	40	30	70	40	60	40
11	CA 4	95	70	60	70	50	75	60	80	50
12	PB 6	90	75	60	80	50	80	40	80	60
13	TE 7	95	70	50	70	50	75	60	80	40
14	AA 2	95	70	50	60	40	80	40	75	40
15	TE 8	95	75	50	70	40	75	50	75	40
16	CA 5	95	70	50	75	70	75	40	75	40
17	CA 4	95	80	50	75	70	80	40	75	50
18	PB 6	95	75	60	75	40	75	40	80	50
19	TE 7	95	75	40	80	70	75	30	75	60
20	AA 2	95	80	50	75	50	70	40	75	20
21	TE 8	95	75	40	80	50	75	40	80	50
22	CA 5	95	70	40	60	60	75	60	75	40
23	CA 4	95	70	40	60	60	75	60	75	40

Tab. 42 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin und DMSO
Glycerinkonzentration: 8 %
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	40	70	75	75	80
0,66 %	40	70	75	80	80
0,99 %	50	75	75	75	85
1,33 %	60	75	75	80	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	30	40	50	50	70
0,66 %	30	40	40	50	70
0,99 %	30	40	40	50	60
1,33 %	20	40	40	50	60

Besprechung der Ergebnisse mit einer Glycerinkonzentration von 8 %

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren bei allen DMSO-Konzentrationen 75 % betrugen.

Nach dem Auftauen war der höchste Medianwert von 50 % bei einer DMSO-Konzentration von 0,33 % zu beobachten, während dies bei allen übrigen DMSO-Konzentrationen 40 % betrugen.

Tab. 44 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit Glycerin und DMSO
Glycerinkonzentration: 10 %
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	50	70	75	75	80
0,66 %	20	70	75	75	80
0,99 %	30	70	75	80	80
1,33 %	30	70	75	75	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	20	40	40	50	60
0,66 %	20	30	40	60	60
0,99 %	20	30	40	45	70
1,33 %	10	30	30	40	50

Besprechung der Ergebnisse mit einer Glycerinkonzentration von 10 %

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren bei allen DMSO-Konzentrationen bei 75 % lagen.

Nach dem Auftauen war der Medianwert von 40 % gleich groß bei DMSO-Konzentrationen von 0,33 bis 0,99 % zu beobachten, nur bei der höchsten DMSO-Konzentration von 1,33 % fiel er auf 30 % ab.

Besprechung der Ergebnisse über den Einfluß kombinierter Zusätze von DMSO und Glycerin in der Rüdenspermatiefrierung

Bei Betrachtung der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen wird deutlich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren insgesamt sehr einheitlich sind. Weder DMSO- noch Glycerin-Konzentrationen üben merkliche Einflüsse auf die Spermienvorwärtsbewegung aus. Die höchsten Medianwerte von 80 % waren bei einer Glycerinkonzentration von 6 % im DMSO-Konzentrationsbereich von 0,66 bis 1,33 % zu finden.

Nach dem Auftauen betrugen die höchsten Medianwerte 50 %, diese waren bei Glycerinkonzentrationen von 4 bis 8 % zu beobachten. Eine Konzentrierung dieser Maxima lag bei 6 % Glyceringehalt.

Die Ergebnisse scheinen anzudeuten, daß zur Erreichung guter Auftauergebnisse mit steigenden Glycerinkonzentrationen geringere DMSO-Zusätze notwendig sind.

3.2.6 Einfluß unterschiedlicher Abkühlzeiten auf die Spermienmotilität bei kombinierten Zusätzen von DMSO und Glycerin

In dieser Versuchsreihe sollte untersucht werden, ob eine Verkürzung oder Verlängerung der in 3.2.5 angewendeten Abkühlzeit von 50 Minuten eine Verbesserung des Konservierungserfolges erbringt.

An den spermareichen Phasen von insgesamt 43 Ejakulaten wurden Abkühlzeiten von 25, 50 und 100 Minuten getestet, wobei sämtliche Ejakulate aus Versuch 3.2.5 miteinbezogen und nochmals in den Versuchsergebnissen aufgeführt wurden, um einen besseren Vergleich zu ermöglichen. Die Ejakulatgrößen lagen zwischen 1,0 und 12,3 ml, die Dichten bewegten sich zwischen 0,07 und 0,6 Mill/mm³. Die Spermienmotilität lag bei 90 bis 95 %.

In dieser Versuchsreihe wurde nach den gleichen Bedingungen wie in 3.2.5 verfahren. Lediglich die Abkühlzeiten von Zimmertemperatur auf + 5° C wurden variiert. Sie betrugen 25, 50 und 100 Minuten.

Die Tabellen 45-68 enthalten sämtliche Einzelergebnisse mit ihren Median- und Quartilwerten.

Tab. 45 Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Auftauen im TRIS-Verdüner mit DMSO und 4 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 25 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	70	30	60	50	60	40	40	40
2	AA 2	95	60	40	70	40	60	30	40	20
3	TE 8	95	70	30	50	50	60	50	60	40
4	CA 5	95	75	40	70	40	75	40	60	50
5	CA 4	95	70	50	50	40	60	40	50	40
6	TE 7	95	80	40	75	40	75	40	70	40
7	AA 2	90	60	40	50	40	70	40	70	40
8	CA 5	95	70	50	80	50	70	40	75	40
9	TE 8	95	70	30	75	30	50	40	60	30
10	CA 4	95	75	50	75	40	80	40	85	50

Tab. 46 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 4 % Glycerin

Abkühlzeit: 25 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	60	70	70	75	80
0,66 %	50	50	70	75	80
0,99 %	50	60	65	75	80
1,33 %	40	50	60	70	85

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	30	30	40	50	50
0,66 %	30	40	40	50	50
0,99 %	30	40	40	40	50
1,33 %	20	40	40	40	50

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 25 Minuten
und 4 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermiovorwärtsbewegung vor dem Einfrieren ihre Maxima von 70 % bei DMSO-Konzentrationen von 0,33 und 0,66 % aufwiesen, in den höheren DMSO-Konzentrationen sanken sie auf 60 % ab.

Nach dem Auftauen betrugen die Medianwerte in allen DMSO-Konzentrationen einheitlich 40 %.

Tab. 47 Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 6 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 25 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 %	0,66 %	0,99 %	1,33 %
			DMSO a b	DMSO a b	DMSO a b	DMSO a b
1	TE 7	95	75 60	75 50	80 50	75 60
2	AA 2	95	70 60	75 40	60 30	75 40
3	TE 8	95	80 50	70 50	70 60	80 40
4	CA 5	95	70 20	70 60	70 40	75 40
5	CA 4	95	70 60	75 70	75 40	75 60
6	TE 7	95	85 40	80 50	80 50	75 40
7	AA 2	95	60 40	70 40	70 30	75 30
8	CA 5	95	70 50	70 40	70 40	75 40
9	TE 8	95	80 40	75 50	70 50	80 60
10	CA 4	95	80 50	85 30	85 40	80 50

Tab. 48 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 6 % Glycerin

Abkühlzeit: 25 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	60	70	70	80	85
0,66 %	70	70	75	75	80
0,99 %	60	70	70	80	85
1,33 %	75	75	75	80	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	20	40	50	60	60
0,66 %	30	40	50	50	70
0,99 %	30	40	40	50	60
1,33 %	30	40	40	60	60

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 25 Minuten
und 6 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren bei DMSO-Konzentrationen von 0,66 und 1,33 % ihre höchsten Werte von 75 % aufwiesen, bei DMSO-Konzentrationen von 0,33 und 0,99 % dagegen 70 % betrugen.

Nach dem Auftauen waren im niedrigen DMSO-Konzentrationsbereich Medianwerte von 50 % zu beobachten, in den höheren Konzentrationen sanken sie auf 40 % ab.

Tab. 49 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 8 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 25 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	75	0	75	20	70	10	80	0
2	AA 2	95	60	0	60	20	60	10	70	20
3	TE 8	95	60	40	70	0	70	40	75	20
4	CA 5	95	60	50	50	30	60	40	70	30
5	CA 4	95	75	40	75	40	70	40	70	40
6	TE 7	95	75	50	75	40	70	40	60	40
7	AA 2	90	70	40	70	30	70	30	75	20
8	CA 5	95	50	30	30	30	70	50	60	40
9	TE 8	95	50	40	70	40	70	30	75	30
10	CA 4	95	70	50	75	50	80	40	75	30

Tab. 50 Mediane und Quartile der Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 8 % Glycerin

Abkühlzeit: 25 Minuten

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	60	60	65	75	75
0,66 %	60	60	70	75	75
0,99 %	60	70	70	70	80
1,33 %	60	70	70	75	80

Spermiovorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	0	30	40	40	50
0,66 %	30	40	40	50	70
0,99 %	10	30	40	40	50
1,33 %	0	20	30	40	40

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 25 Minuten
und 8 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß der Medianwert der Spermienmotilität vor dem Einfrieren nur bei der niedrigen DMSO-Konzentration von 0,33 % 65 % betrug, bei den höheren DMSO-Konzentrationen dagegen einheitlich bei 70 % lag.

Nachdem Auftauen war der Medianwert bei den DMSO-Konzentrationen von 0,33 bis 0,99 % einheitlich 40 %, bei 1,33 % DMSO sank er auf 30 % ab.

Tab. 51 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünnern mit DMSO und 10 % Glycerin

Vorwärtsbeweglichkeit (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 25 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	60	0	70	30	70	10	60	0
2	AA 2	95	60	0	60	0	50	0	50	0
3	TE 8	95	60	20	60	0	70	0	70	0
4	CA 5	95	60	40	50	40	40	30	50	40
5	CA 4	95	75	50	60	50	70	40	70	20
6	TE 7	95	80	40	80	30	80	30	75	30
7	AA 2	95	60	30	70	10	60	20	70	0
8	CA 5	95	60	40	70	60	50	40	40	30
9	TE 8	95	70	50	75	40	75	30	70	30
10	CA 4	95	75	50	75	30	80	30	80	40

Tab. 52 Median und Quartile der Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünnern mit DMSO und 10 % Glycerin

Abkühlzeit: 25 Minuten

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	60	60	60	75	80
0,66 %	50	60	70	75	80
0,99 %	40	50	70	75	80
1,33 %	50	50	70	70	80

Spermiovorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	0	20	40	50	50
0,66 %	10	10	30	40	40
0,99 %	0	10	30	30	40
1,33 %	0	20	25	30	40

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 25 Minuten
und 10 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermiovorwärtsbewegung vor dem Einfrieren ihre Maxima von 70 % bei DMSO-Konzentrationen von 0,66 bis 1,33 % aufwiesen, nur bei 0,33 % DMSO betrug der Medianwert 60 %.

Nach dem Auftauen war mit steigenden DMSO-Konzentrationen ein deutliches Absinken der Medianwerte erkennbar. Das Maximum von 40 % lag bei der niedrigsten DMSO-Konzentration, im mittleren Konzentrationsbereich betrug der Medianwert 30 % und fiel auf 25 % bei 1,33 % DMSO ab.

Tab. 53

Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit DMSO und 4 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %)

Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	1,33 %		0,66 %		0,99 %		1,33 %	
			DMSO	a	DMSO	a	DMSO	a	DMSO	a
1	TE 7	95	75	30	80	30	75	50	60	30
2	AA 2	90	70	40	60	40	50	50	40	40
3	TE 8	90	70	40	50	50	40	30	70	30
4	CA 5	95	80	40	75	50	70	50	75	40
5	CA 4	95	60	40	50	40	60	40	50	30
6	PB 6	95	75	50	75	30	80	20	75	20
7	TE 7	95	80	60	80	60	70	40	70	50
8	AA 2	95	40	40	60	40	70	60	60	40
9	TE 8	95	70	50	70	50	75	30	75	50
10	CA 5	95	80	40	70	40	75	50	85	40
11	CA 4	95	80	40	70	60	75	70	75	60
12	PB 6	95	75	40	80	40	80	60	80	30
13	TE 7	95	70	50	70	50	75	40	75	40
14	AA 2	95	60	20	40	40	30	20	50	30
15	TE 8	95	70	50	70	50	75	60	80	50
16	CA 5	95	75	40	70	40	80	40	75	40
17	CA 4	95	80	40	80	50	75	50	80	40
18	PB 6	95	75	50	75	60	80	60	75	40
19	TE 7	95	75	40	75	60	75	50	70	40
20	AA 2	95	75	50	70	40	80	50	80	50
21	TE 8	95	60	30	70	40	80	30	75	40
22	CA 5	95	70	40	60	40	75	40	80	30
23	CA 4	95	85	40	80	10	80	50	80	50

Tab. 54 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 4 % Glycerin
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	40	70	75	80	85
0,66 %	40	65	70	75	80
0,99 %	30	70	75	75	80
1,33 %	40	70	75	80	85

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	20	40	40	50	60
0,66 %	10	40	40	50	60
0,99 %	20	40	50	55	60
1,33 %	20	30	40	50	60

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 50 Minuten und 4 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren einheitlich bei 75 % lagen, nur bei einer DMSO-Konzentration von 0,66 % betrug der Medianwert 70 %.

Nach dem Auftauen konnte der höchste Medianwert von 50 % bei einer DMSO-Konzentration von 0,99 % beobachtet werden, bei allen anderen Konzentrationen betrug der Medianwert 40 %.

Tab. 56 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 6 % Glycerin
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	60	75	75	80	85
0,66 %	70	75	80	80	85
0,99 %	70	80	80	80	85
1,33 %	70	75	80	80	85

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	20	40	50	50	70
0,66 %	20	40	50	60	70
0,99 %	20	40	40	60	70
1,33 %	20	35	40	50	60

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 50 Minuten und 6 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren bei Konzentrationen von 0,66 bis 1,33 % DMSO 80 % betrugen, nur bei der DMSO-Konzentration von 0,33 % lag der Medianwert mit 75 % geringfügig kleiner.

Nach dem Auftauen lagen die höchsten Medianwerte von 50 % bei DMSO-Konzentrationen von 0,33 und 0,66 %. Bei den höheren DMSO-Konzentrationen sanken die Medianwerte auf 40 % ab.

Tab. 57

Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdüner mit DMSO und 8 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %)

a: vor dem Einfrieren

b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	75	40	70	40	75	40	80	40
2	AA 2	90	60	50	70	40	50	40	75	40
3	TE 8	95	75	40	75	40	85	50	80	40
4	CA 5	95	75	50	60	50	75	30	70	30
5	CA 4	95	60	50	70	40	75	50	75	30
6	PB 6	95	70	30	80	40	75	30	80	30
7	TE 7	95	80	70	80	50	75	60	70	50
8	AA 2	95	70	30	75	40	75	40	75	40
9	TE 8	95	75	50	80	50	85	60	75	40
10	CA 5	95	40	40	40	30	70	40	60	40
11	CA 4	95	70	60	70	50	75	60	80	50
12	PB 6	90	75	60	80	50	80	40	80	60
13	TE 7	95	70	50	70	50	75	60	80	40
14	AA 2	95	70	50	60	40	80	40	75	40
15	TE 8	95	75	50	70	40	75	50	75	40
16	CA 5	95	70	50	75	70	75	40	75	40
17	CA 4	95	80	50	75	70	80	40	75	50
18	PB 6	95	75	60	75	40	75	40	80	50
19	TE 7	95	75	40	80	70	75	30	75	60
20	AA 2	95	80	50	75	50	70	40	75	20
21	TE 8	95	75	40	80	50	75	40	80	50
22	CA 5	95	70	40	60	60	75	60	75	40
23	CA 4	95	70	40	60	60	75	60	75	40

Tab. 58 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit DMSO und 8 % Glycerin
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	40	70	75	75	80
0,66 %	40	70	75	80	80
0,99 %	50	75	75	75	85
1,33 %	60	75	75	80	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	30	40	50	50	70
0,66 %	30	40	40	50	70
0,99 %	30	40	40	50	60
1,33 %	20	40	40	50	60

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 50 Minuten und 8 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren bei allen DMSO-Konzentrationen 75 % betragen.

Nach dem Auftauen war der höchste Medianwert von 50 % bei einer DMSO-Konzentration von 0,33 % zu beobachten, während sie bei allen übrigen DMSO-Konzentrationen 40 % betragen.

Tab. 59

Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren
im TRIS-Verdünnung mit DMSO und 10 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %)

a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 50 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	75	30	80	30	80	30	75	30
2	AA 2	90	70	30	70	30	80	30	75	30
3	TE 8	95	70	40	70	30	75	30	70	20
4	CA 5	95	60	40	70	40	50	40	60	30
5	CA 4	95	80	40	70	50	75	50	75	30
6	PB 6	95	80	40	80	40	80	40	75	30
7	TE 7	95	75	40	80	40	75	40	75	30
8	AA 2	95	60	40	70	40	70	30	70	30
9	TE 8	95	75	40	70	40	70	40	70	40
10	CA 5	95	60	40	70	40	50	50	70	40
11	CA 4	95	75	40	80	50	80	70	80	50
12	PB 6	90	75	50	75	50	80	40	75	30
13	TE 7	95	75	30	75	40	70	40	80	10
14	AA 2	95	70	20	70	20	75	40	70	20
15	TE 8	95	75	50	75	30	70	20	75	30
16	CA 5	95	50	50	60	50	60	40	70	40
17	CA 4	95	70	30	75	40	75	50	75	30
18	PB 6	95	75	40	75	30	75	40	70	40
19	TE 7	95	75	50	80	60	80	30	75	30
20	AA 2	95	70	50	75	20	60	40	50	20
21	TE 8	95	70	40	75	40	70	30	75	40
22	CA 5	95	60	40	20	20	30	30	30	30
23	CA 4	95	75	60	75	60	70	50	75	40

Tab. 60 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit DMSO und 10 % Glycerin
Abkühlzeit: 50 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	50	70	75	75	80
0,66 %	20	70	75	75	80
0,99 %	30	70	75	80	80
1,33 %	30	70	75	75	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	20	40	40	50	60
0,66 %	20	30	40	60	60
0,99 %	20	30	40	45	70
1,33 %	10	30	30	40	50

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 50 Minuten und 10 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren bei allen DMSO-Konzentrationen bei 75 % lagen.

Nach dem Auftauen war der Medianwert von 40 % gleich groß bei DMSO-Konzentrationen von 0,33 bis 0,99 % zu beobachten, nur bei der höchsten DMSO-Konzentration von 1,33 % fiel er auf 30 % ab.

Tab. 61 Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit DMSO und 4 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 100 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 %		0,66 %		0,99 %		1,33 %	
			DMSO		DMSO		DMSO		DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	60	50	70	50	85	50	80	40
2	AA 2	95	60	40	70	30	75	30	75	40
3	TE 8	95	50	50	75	60	75	30	75	40
4	CA 5	95	75	40	70	30	80	50	85	40
5	CA 4	95	75	60	75	50	70	70	80	40
6	TE 7	95	80	10	80	10	80	30	70	10
7	AA 2	95	75	40	60	40	70	40	70	40
8	CA 5	95	70	20	75	40	75	40	75	10
9	TE 8	95	70	0	75	30	70	40	60	10
10	CA 4	95	80	50	75	50	85	40	80	30

Tab. 62 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdünner mit DMSO und 4 % Glycerin

Abkühlzeit: 100 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	50	60	70	75	80
0,66 %	60	70	75	75	80
0,99 %	70	70	75	85	85
1,33 %	60	70	75	80	85

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	10	20	40	50	60
0,66 %	10	20	40	50	60
0,99 %	30	30	40	50	70
1,33 %	10	10	35	40	40

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 100 Minuten
und 4 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medienwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren bei den hohen DMSO-Konzentrationen mit 75 % ihr Maximum hatten, bei der niedrigsten Konzentration betrug er dagegen nur 70 %.

Nach dem Auftauen war der Medianwert bei DMSO-Konzentrationen von 0,33 bis 0,99 % gleichbleibend 40 % und fiel bei der hohen DMSO-Konzentration auf 35 % ab.

Tab. 63 Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 6 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 100 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	80	50	80	60	75	30	70	40
2	AA 2	95	75	50	70	40	75	40	80	40
3	TE 8	95	70	70	75	60	70	40	80	40
4	CA 5	95	60	40	75	60	75	40	80	40
5	CA 4	95	80	60	70	60	70	50	70	40
6	TE 7	95	70	20	75	40	80	10	75	30
7	AA 2	95	60	40	75	40	75	30	80	40
8	CA 5	95	80	40	70	40	75	10	80	40
9	TE 8	95	75	40	70	40	75	40	75	40
10	CA 4	95	80	60	80	60	80	50	80	50

Tab. 64 Mediane und Quartile der Spermiovorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 10 % Glycerin

Abkühlzeit: 100 Minuten

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	60	70	75	80	80
0,66 %	60	70	75	80	85
0,99 %	70	70	75	75	85
1,33 %	70	75	80	80	80

Spermiovorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	20	40	45	60	60
0,66 %	40	40	50	60	60
0,99 %	10	30	40	40	50
1,33 %	40	40	40	40	50

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 100 Minuten
und 6 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren ihr Maximum von 80 % bei einer DMSO-Konzentration von 1,33 % hatten, die übrigen Medianwerte lagen einheitlich bei 75 %.

Nach dem Auftauen betrug der Medianwert bei einer DMSO-Konzentration von 0,33 % 45 %, stieg bei 0,66 % DMSO auf 50 % und fiel bei den hohen DMSO-Konzentrationen auf 40 % ab.

Tab. 65 Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 8 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 100 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	80	50	85	40	80	50	80	50
2	AA 2	95	70	20	60	30	60	30	70	40
3	TE 8	95	70	70	70	40	70	40	75	40
4	CA 5	95	75	50	75	40	60	40	70	40
5	CA 4	95	80	60	75	50	70	50	75	40
6	TE 7	95	75	0	75	10	80	20	75	0
7	AA 2	95	75	40	60	20	75	10	70	20
8	CA 5	95	70	40	75	10	80	40	70	40
9	TE 8	95	75	20	70	30	70	10	75	50
10	CA 4	95	80	60	75	60	75	40	70	50

Tab. 66 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 8 % Glycerin

Abkühlzeit: 100 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	70	70	75	80	80
0,66 %	60	70	75	75	85
0,99 %	60	70	70	80	80
1,33 %	70	70	70	75	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	0	20	45	60	60
0,66 %	10	20	35	40	60
0,99 %	10	20	40	40	50
1,33 %	0	40	40	50	50

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 100 Minuten
und 8 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren ihre höchsten Werte von 75 % bei DMSO-Konzentrationen von 0,33 und 0,66 % hatten. Bei den höheren DMSO-Konzentrationen betrugen die Medianwerte 70 %.

Nach dem Auftauen lag der höchste Wert von 45 % bei einer DMSO-Konzentration von 0,33 %, bei 0,66 % DMSO kam es zum Absinken des Medianwertes auf 35 %, und in den höheren DMSO-Konzentrationen stieg der Medianwert wieder auf 40 % an.

Tab. 67 Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 10 % Glycerin

Vorwärtsbewegung (V %) a: vor dem Einfrieren
b: nach dem Auftauen

Abkühlzeit: 100 Minuten

Lfd. Nr.	Rüde	V % im Nativ präp.	0,33 % DMSO		0,66 % DMSO		0,99 % DMSO		1,33 % DMSO	
			a	b	a	b	a	b	a	b
1	TE 7	95	75	30	70	40	75	40	70	30
2	AA 2	95	40	30	60	30	70	20	75	30
3	TE 8	95	70	40	60	30	70	10	70	30
4	CA 5	95	30	20	20	20	20	20	40	40
5	CA 4	95	80	40	75	50	80	60	75	50
6	TE 7	95	75	0	75	10	75	0	80	0
7	AA 2	95	75	10	75	10	75	30	70	0
8	CA 5	95	80	0	75	10	70	10	75	20
9	TE 8	95	70	20	60	10	70	10	75	10
10	CA 4	95	75	10	80	20	70	20	80	10

Tab. 68 Mediane und Quartile der Spermienvorwärtsbewegung vor und nach dem Einfrieren im TRIS-Verdüner mit DMSO und 10 % Glycerin

Abkühlzeit: 100 Minuten

Spermienvorwärtsbewegung (%) vor dem Einfrieren					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	30	70	75	75	80
0,66 %	20	60	70	75	80
0,99 %	70	70	70	75	80
1,33 %	20	70	70	75	80

Spermienvorwärtsbewegung (%) nach dem Auftauen					
DMSO-Konzentrat.	unteres Extrem	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
0,33 %	0	10	20	30	40
0,66 %	10	10	20	30	50
0,99 %	0	10	20	30	60
1,33 %	0	10	25	30	50

Besprechung der Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 100 Minuten
und 10 % Glycerinkonzentration

Bei Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse zeigt sich, daß die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren mit 75 % ihren höchsten Wert bei der niedrigsten DMSO-Konzentration von 0,33 % hatte; bei den übrigen Konzentrationen betrug der Medianwert einheitlich 70 %.

Nach dem Auftauen lagen die Medianwerte gleichbleibend bei 20 %, mit Ausnahme bei der höchsten DMSO-Konzentration, wo der Medianwert 25 % betrug.

Besprechung der Ergebnisse über den Einfluß unterschiedlicher Abkühlzeiten auf die Spermienmotilität bei kombinierten Zusätzen von DMSO und Glycerin

Bei Betrachtung der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung wird deutlich, daß die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung vor dem Einfrieren bei den längeren Abkühlzeiten von 50 und 100 Minuten insgesamt merklich höher lagen als bei einer Abkühlzeit von 25 Minuten. Eine Häufung des höchsten Medianwertes von 80 % war bei einer Abkühlzeit von 50 Minuten, 6 % Glycerinkonzentration und im Bereich der hohen DMSO-Konzentrationen zu beobachten.

Insgesamt schienen weder Glycerin- noch DMSO-Konzentrationsunterschiede einen deutlichen Einfluß auf die Medianwerte der Spermienmotilität vor dem Einfrieren zu nehmen.

Nach dem Auftauen kam es ebenfalls zu einer Häufung der höchsten Medianwerte (50 %) bei einer Abkühlzeit von 50 Minuten und einer Glycerinkonzentration von 6 %, in der gleichen Versuchsreihe also, die bereits vor dem Einfrieren die besten Ergebnisse aufwies.

Bei Abkühlzeiten von 25 und 100 Minuten kam es bei Glycerinkonzentrationen von 10 % zu einem Absinken der Medianwerte, das bei 100 Minuten Abkühlzeit besonders auffällig war.

4. Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen sollten die in der einschlägigen Literatur über die Rüdenspermatiefgefrierung gemachten, zum Teil widersprüchlichen Angaben bezüglich geeigneter Verdünnungsmedien, Gefrierschutzsubstanzen, deren Konzentrationen und Anpassungszeiten überprüft und in einer vergleichenden Untersuchung ein geeignetes Tiefgefrier-Konservierungsverfahren für Rüdensperma gefunden werden.

Bei der Samengewinnung hat sich die bereits von KRAUSE (1965) sowie von MACPHERSON und PENNER (1967) beschriebene Methode der Penismassage bewährt, die Anwesenheit von läufigen Hündinnen, wie sie von BOUCHER und Mitarbeitern (1958) empfohlen worden war, bewirkte weder qualitative noch quantitative Verbesserungen der Ejakulate.

Bei den zur Spermagewinnung geprüften Verdünnungsmedien erwies sich der TRIS-Verdünner sowohl dem Lactose- wie auch dem IVT-Verdünner eindeutig überlegen. Die höchsten Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung von 50 % wurden mit dem TRIS-Verdünner bei einer Glycerinendkonzentration von 6 % nach einer Anpassungszeit von 30 Minuten beobachtet. Die Ergebnisse mit dem Lactose- und auch mit dem IVT-Verdünner lagen wesentlich niedriger. Damit konnten die Angaben von SEAGER (1969) und van GEMERT (1970), die gute Konservierungsergebnisse mit Lactose-Verdünnern beschrieben hatten, nicht bestätigt werden. Auch die Ergebnisse von BAHLAU (1958), die mit Na-Citrat-Verdünnern erzielt wurden, konnten nicht reproduziert werden. Die mit dem TRIS-Verdünner erzielten Resultate bestätigen die von FOOTE (1964 a) sowie von GILL und Mitarbeitern (1970) mit dem gleichen Verdünner gemachten guten Erfahrungen.

Bei Prüfung unterschiedlicher Glycerinkonzentrationen wurden die

besten Auftauergebnisse bei Glycerinzusätzen von 6 und 8 % beobachtet, die Ergebnisse bei 4 % Glycerinkonzentration waren nur geringgradig schlechter. Die günstigsten Glycerinanpassungszeiten betrugen 30 und 60 Minuten. Kürzere und längere Anpassungszeiten ließen ein deutliches Absinken der Auftauergebnisse erkennen. Untersuchungen über die Zugabe von Glycerin bei unterschiedlichen Temperaturen zeigten, daß die Auftauergebnisse nach Zusatz des Glycerins bei $+ 5^{\circ} \text{C}$ insgesamt gesehen günstiger lagen als nach Zusatz bei Zimmertemperatur.

Die in den eigenen Untersuchungen ermittelten Glycerinkonzentrationsoptima von 6 bis 8 % entsprechen nahezu den von BAHLAU (1958) gemachten Angaben und liegen deutlich niedriger als die von FOOTE (1964 a) verwendeten Konzentrationen. Eine von HARROP (1962) und van GEMERT (1970) empfohlene Glycerinanpassungszeit von 120 Minuten ist in der vorliegenden Arbeit nicht überprüft worden, da bereits eine Anpassungszeit von 90 Minuten ein Absinken der Auftauergebnisse erkennen ließ.

Weiterhin wird aus den Ergebnissen ersichtlich, daß es sich günstiger auf den Konservierungserfolg auswirkt, wenn der Glycerinzusatz bei $+ 5^{\circ} \text{C}$ erfolgt, gegenüber einer Zugabe bei Zimmertemperatur. Wurde das Glycerin bei Zimmertemperatur zugegeben, dann konnten die besten Medianwerte von 40 % vorwärtsbeweglichen Spermien bei Glycerinkonzentrationen von 6 % und Glycerinanpassungszeiten von 50 Minuten bzw. bei 8 % Glycerin und einer Anpassungszeit von 80 Minuten beobachtet werden. Dagegen kam es zu einer Häufung des Medianwertes von 40 % vorwärtsbeweglichen Spermien im Glycerinkonzentrationsbereich von 4 bis 10 %, wenn das Glycerin bei $+ 5^{\circ} \text{C}$ zugegeben wurde und die Äquilibrierungszeit 60 Minuten betrug. Die Ergebnisse, die nach Zugabe des Glycerins bei Zimmertemperatur nach 80 Minuten Äquilibrierungszeit erzielt wurden, liegen insgesamt gesehen geringfügig niedriger als nach 50minütiger Anpassung.

Die hier bezüglich der Glycerinzugabetemperatur erzielten Ergebnisse stehen mit den Angaben von ANDERSEN (1975), der Glycerin bei Zimmertemperatur zugesetzt hatte und eine Äquilibrierungszeit von 3 Stunden anwendete, nicht im Einklang. Direkte Vergleiche mit den Angaben der übrigen Autoren bezüglich der Glycerinzugabetemperaturen sind kaum möglich, da von ihnen keine konkreten Aussagen hierüber gemacht worden sind.

In der einschlägigen Literatur zur Rüdenspermatiegefrierung sind bisher keine Angaben über die Verwendung von DMSO als Gefrierschutzsubstanz anstelle des Glycerins gemacht worden. Bei Betrachtung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse kann festgestellt werden, daß die kryoprotektive Wirkung des DMSO nicht mit der des Glycerins vergleichbar ist. Bei Abkühlung der Samenverdünnungen auf $+ 5^{\circ}\text{C}$ war der Abfall der Spermienmotilität mit DMSO-Zusätzen zwar geringer als bei Verwendung von Glycerin, die Medianwerte der Spermienvorwärtsbewegung betrugen nach dem Auftauen aber maximal 20 % gegenüber 50 % bei Glycerinzusätzen.

Der günstige Einfluß von DMSO auf die Aufrechterhaltung der Spermienvorwärtsbewegung während des Abkühlens war Anlaß, für die Rüdenspermatiegefrierung den Einfluß kombinierter Zusätze von DMSO und Glycerin zu überprüfen. Dabei zeigte sich, daß die höchsten Medianwerte von 50 % und ebenso eine Häufung der Spermienvorwärtsbewegung bei den Einzelergebnissen von 70 % in der Gruppe mit einer Abkühlzeit von 50 Minuten im Bereich von DMSO-Konzentrationen unter 1 % und bei Glycerinkonzentrationen zwischen 6 und 8 % zu finden sind. Die Glycerin-Äquilibrierungszeit betrug 60 Minuten, die des DMSO 110 Minuten.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß offensichtlich Wechselbeziehungen zwischen DMSO und Glycerin bestehen. Wie aus Tabelle 69 nochmals ersichtlich ist, sind zur Erzielung optimaler Auftauergebnisse bei Verwendung niedriger DMSO-Konzentrationen höhere Gly-

cerinzusätze notwendig, umgekehrt sind bei niedrigen Glycerinkonzentrationen höhere DMSO-Zusätze erforderlich.

Tab. 69 Mediane, Quartile und Höchstwerte der Spermiovorwärtsbewegung nach dem Auftauen

TRIS-Verdünner mit DMSO und Glycerin, Abkühlzeit 50 Minuten

Glycerin-Äquilibration: 60 Minuten, DMSO-Äquilibration: 110 Minuten

DMSO-Konz.	Glycerinkonzentr.	1. Quartil	Median	3. Quartil	oberes Extrem
1,33 %	4 %	30	40	50	60
0,99 %	6 %	40	40	60	70
0,66 %		40	50	60	70
0,33 %		40	50	50	70
0,33 %	8 %	40	50	50	70
0,33 %	10 %	40	40	50	60

Beim Vergleich unterschiedlicher Abkühlzeiten wurden die besten Ergebnisse mit einer Abkühlzeit von 50 Minuten erreicht; sie waren günstiger als bei Abkühlzeiten von 25 und 100 Minuten.

Insgesamt betrachtet kann festgestellt werden, daß zur Erzielung optimaler Konservierungsergebnisse die Verwendung kombinierter Zusätze von DMSO und Glycerin der alleinigen Zugabe von Glycerin vorzuziehen sind. DMSO-Glycerin-Kombinationen weisen eine wesentlich geringere Schwankungsbreite in den Einzelergebnissen auf, im Gegensatz zu alleinigen Glycerin-Zusätzen, wobei bei 6 %iger Glycerinkonzentration der günstigste Konzentrationsbereich des DMSO von 0,33 bis 0,99 % am größten ist.

5. Zusammenfassung

Über einen Versuchszeitraum von ca. vier Monaten wurden von sechs Beaglerrüden 174 Ejakulate durch Penismassage fraktioniert gewonnen und zu vergleichenden Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung herangezogen. Die Samenverdünnungen wurden in Pelletform eingefroren und in flüssigem Stickstoff für mindestens 48 Stunden gelagert.

Folgende Kriterien wurden untersucht:

1. Einfluß verschiedener Verdünnungsmedien auf die Spermienmotilität
2. Einfluß unterschiedlicher Glycerinkonzentrationen und -äquilibrierungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner.
3. Zugabe des Glycerins bei Zimmertemperatur und bei $+ 5^{\circ} \text{C}$.
4. Einfluß unterschiedlicher DMSO-Konzentrationen und -äquilibrierungszeiten auf die Spermienmotilität im TRIS-Verdünner.
5. Prüfung kombinierter Zusätze von DMSO und Glycerin in der Rüdenspermatiefgefrierung.
6. Einfluß unterschiedlicher Abkühlzeiten auf die Spermienmotilität bei kombinierten Zusätzen von DMSO und Glycerin.

Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefaßt werden:

1. Für die Rüdenspermatiefgefrierung war der TRIS-Verdünner dem 11 %igen Lactose- und auch dem IVT-Verdünner deutlich überlegen.
2. Als Gefrierschutzsubstanz erwies sich Glycerin besser geeignet als DMSO. Erfolgte der Zusatz des Glycerins bei $+ 5^{\circ} \text{C}$, wurden günstigere Konservierungsergebnisse erzielt, als wenn das Glycerin bei Zimmertemperatur zugesetzt wurde.
3. Die besten Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden bei kombinierten Zusätzen von DMSO und Glycerin erzielt, wenn DMSO in

Konzentrationen unter 1% bei Zimmertemperatur und Glycerin bei + 5°C zugesetzt wurde, die Abkühlzeit 50 Minuten nicht überstieg, die Glycerinäquilibration 60 Minuten betrug und die Glycerinkonzentration von 6 % eingehalten wurde.

Welches der beiden Konservierungsverfahren - alleinige Zusätze von Glycerin oder kombiniert mit DMSO - in der Praxis besser geeignet ist, sollte in Besamungsversuchen geklärt werden.

6. SUMMARY

Over a period of about four months 174 ejaculates of six Beagle dogs were taken in fractions by digital manipulation to achieve comparative investigations of deep-freezing dog spermatozoa. The sperm-diluents were frozen in pelleted form and were stored in liquid nitrogen for at least 48 hours.

The following points were examined:

1. The influence of different extenders on the motility of spermatozoa.
2. The influence of different glycerol-concentrations and -equilibration-times on the motility of spermatozoa in the TRIS-extender.
3. Adding glycerol at room temperature and at $+ 5^{\circ} \text{C}$.
4. The influence of different DMSO-concentrations and -equilibration-times on the motility of spermatozoa in the TRIS-extender.
5. Testing of combined additions of DMSO and glycerol in the deep-freezing of dog spermatozoa.
6. The influence of different cooling rates on the motility of spermatozoa with combined additions of DMSO and glycerol.

The results can be summarized as follows:

1. In respect of the deep-freezing of dog semen the TRIS-extender was evidently superior to the 11 %-Lactose-extender as well as to the IVT-extender.
2. Glycerol proved to be better than DMSO as a protective factor during freezing.

In comparison to adding the glycerol at room temperature better results were achieved when adding the glycerol at $+ 5^{\circ} \text{C}$.

3. The best results of these investigations were achieved with combined additions of DMSO and glycerol, when DMSO in smaller concentrations than 1 % was added at room temperature and glycerol at $+ 5^{\circ} \text{C}$, the cooling rate did not exceed 50 minutes, the glycerol-equilibration-time came to 60 minutes and the glycerol-concentration was kept at 6 %.

Insemination tests should clarify which of the two methods of preserving - soul addition of glycerol or combined with DMSO - will prove to be better in practice.

7. Literaturverzeichnis

1. Andersen, K. (1972) Fertility of frozen semen
Acta Vet. Scand, 13, 128-130
2. Andersen, K. (1975) Insemination with frozen dog semen based
on a new insemination technique
Zuchthyg., 10, 1-4
3. Bahlau, E. (1958) Untersuchungen über die Konservierung
von Hundesperma
Vet.-Med.-Diss. München
4. Biedermann, H. (1951) Gewinnung, Beschaffenheit und Verdün-
nung des Spermas vom Hund
Vet.-Med.-Diss. Hannover
5. Boucher, J. H.,
R. H. Foote,
R. W. Kirk (1958) The evaluation of semen quality in the
dog and the effects of frequency of
ejaculation upon semen quality, libido
and depletion of sperm reserves
Cornell Vet., 48, 68-86
6. Brochart, M.,
J. Coulomb (1952) Recherches sur la dilution et la conserva-
tion du sperme de chien
Bull. Acad. Vét. France, 25, 59-62
7. Davis, J. S.,
R. W. Bratton,
R. H. Foote (1963) Livability of bovine spermatozoa at + 5°C,
-25°C and -85°C in TRIS-buffered and
citrate-buffered yolk-glycerol-extenders
J. Dairy Sci., 46, 333-336
8. Foote, R. H. (1964)a) Extenders for freezing dog semen
Am. J. Vet. Res., 25, 37-40
9. Foote, R. H. (1964)b) The influence of frequency of semen
collection, fractionation of the ejaculate,
and dilution rate on the survival of stored
dog semen
Cornell Vet., 54, 89-97
10. Foote, R. H. (1974) Die künstliche Besamung bei Hunden, Kat-
zen und Pelztieren
in: Paufler (1974): Die künstliche Besa-
mung und Eitransplantation bei Mensch
und Tier, Bd. 1
Verlag Schaper, Hannover

11. Foote, R. H.,
J. H. Boucher (1964) A comparison of several photo-electric
procedures for estimating sperm concen-
tration in dog semen
Am. J. Vet. Res., 25, 558-560
12. Foote, R. H.,
E. P. Leonard
(1964) The influence of ph, osmotic pressure,
glycine, and glycerol on the survival of
dog sperm in buffered-yolk extenders
Cornell Vet., 54, 78-89
13. Freiberg, E. A.
(1935) K voprusu iskussetvennogo osemenenije
sobak
Sluzebn. Sobakovod, 1, 4
zit.: F. Schaetz: Künstliche Besamung
bei Haustieren
VEB G. Fischer Verlag, Jena, 1963
14. Gemert, W. van
(1970) Diepvries-pups
Tijdschr. Diergenesk., 95, 697-699
15. Gill, H. P.,
C. F. Kaufman,
R. H. Foote,
R. W. Kirk (1970) Artificial insemination of Beagle bitches
with freshly collected, liquid-stored and
frozen-stored semen
Am. J. Vet. Res., 31, 1807-1813
16. Götze, R. (1949) Besamung und Unfruchtbarkeit der Haus-
säugetiere
Schaper Verlag, Hannover
17. Harrop, A. E.
(1954 a) A new type of canine artificial vagina
Brit. Vet. J., 110, 194-196
18. Harrop, A. E.
(1954 b) Artificial insemination of a bitch with
preserved semen
Brit. Vet. J., 110, 424-425
19. Harrop, A. E.
(1955) Some observations on canine semen
Vet. Rec., 67, 494-498
20. Harrop, A. E.
(1956) Artificial insemination in dogs. The first
transatlantic conception
Brit. Vet. J., 112, 338-340
21. Harrop, A. E.
(1960) Reproduction in the dog
Tindall, Baillière & Cox, London
22. Harrop, A. E.
(1962) Artificial insemination in the dog
Chapter 17
in: Maule, J. P. Ed. Bucks Common-
wealth Agricultural Bureau, Farnham
Royal, England

23. Hammond, J. (1930) The effect of temperature on the survival in vitro of rabbit spermatozoa obtained from the vagina.
Brit. J. Exper. Biol., 4, 155
zit.: F. Schaetz: Künstl. Besamung bei Haustieren
VEB G. Fischer Verlag, Jena, 1963
24. Ivanov, E. J. (1926) Durée de la conservation de la propriété fecondatrice des spermatozoides des mammifères dans l'épididyme séparé
Compt. rend. Acad. Sci., 183, 456
zit. nach F. Schaetz: Künstl. Besamung bei Haustieren
25. Jahnel, F. (1938) Über die Widerstandsfähigkeit von menschlichen Spermatozoen gegenüber starker Kälte
Klin. Wochenschr., 17, 1273-1274
26. Krause, D. (1965) Zur Fertilitätsuntersuchung beim Hund
Deutsch. Tierärztl. Wochenschr., 72, Bd. 1, 3-10
27. Laiblin, Chr. (1974) Ein Beitrag zur Tiefgefrierkonservierung von Kaninchensperma
Vet.-Med.-Diss. FU Berlin
28. Löfstedt, F. (1951) Die künstliche Besamung beim Hund und die Möglichkeit zur Aufbewahrung bei niedrigen Temperaturen
Referat auf dem Kynologischen Weltkongreß in Dortmund 1956
29. MACPherson, J. W., P. Penner (1967) Canine reproduction
I. Reaction of animals to collection of semen and insemination procedures
Canad. J. Comp. Med., 31, 62-64
30. Martin, I. C. A. (1963 a) The freezing of dog spermatozoa to -79°C
Res. Vet. Sci., 4, 304-314
31. Martin, I. C. A. (1963 b) The deep-freezing of dog spermatozoa in diluents containing skim-milk
Res. Vet. Sci., 4, 315-325
32. Milovanov, V. K. (1934) Oxnovy iskusst vennogo osemenenija
State publishing house, Moscow and Leningrad
zit. nach F. Schaetz: Künstl. Besamung bei Haustieren

33. Nagase, H.,
T. Niwa (1964) Deep-freezing bull semen in concentrated pellet form
IVth Int. Congr. Anim. Reproduct. and A. I. Trento, IV., 410
34. Polge, C.,
A. U. Smith,
A. S. Parkes (1949) Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures
Nature, 164, 666
35. Seager, S. W. J.
(1969) Successful pregnancies utilizing frozen dog semen
A.I.-Digest, 12, 6
36. Seager, S. W. J.
(1974) Transporting frozen canine semen
Vet. Rec. 95, 47-48
37. Seager, S. W. J.,
W. S. Fletcher (1972) Collection, storage and insemination of canine semen
(1972) Lab. Anim. Sci., 22, 177-182
38. Seager, S. W. J.,
W. S. Fletcher
(1973) Progress on the use of frozen semen in the dog
Vet. Rec., 92, 6-10
39. Schefels, W. (1969) Spermagewinnung beim Rüden mit Hilfe eines Vibrators
Dtsch. Tierärztl. Wochenschr., 76, 289-290
40. Smith, A. U.,
C. Polge (1950) Survival of spermatozoa at low temperatures
Nature, 166, 668-669
41. Thacker, D. L.,
Almquist, J. O.
(1953) Diluters for bovine semen. I. Fertility and motility in boiled milk
J. Dairy Sci., 36, 173-179
42. Wales, R. G.,
I. G. White (1963) Viability of diluted dog spermatozoa in vitro
J. Reprod. Fert., 5, 67-76
43. Willett, E. L.,
G. W. Salisbury
(1942) The effect of various diluters, cooling rate, temperature of storage and some other factors on the livability of spermatozoa in stored samples of bull semen
Ithaca, N. Y. 1942
zit.: F. Schaetz: Die künstliche Besamung bei Haustieren
VEB G. Fischer Verlag, Jena, 1963

Lebenslauf

Name:	Heidrich
Vorname:	Sabine
Geboren:	25. September 1950 in Bremen
Vater:	Werner Heidrich
Mutter:	Carola Heidrich geb. Windels

Beruflicher Werdegang: Abitur im Mai 1970 am "Gymnasium am Wall" in Verden / Aller.

Ab Wintersemester 1970/71 Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin.

Tierärztliche Vorprüfung im Sommer 1972. Tierärztliche Prüfung im Winter 1975/76. Bestallung als Tierärztin am 29. März 1976.

Vom 1. 2. bis zum 30. 6. 1977 Assistentin in einer Großtierpraxis.

Herrn Prof. Dr. D. Rohloff danke ich für die Überlassung des Themas und die mir jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung und Abfassung der Arbeit.

Ich danke allen Angehörigen dieser Klinik, die zur Durchführung dieser Arbeit beigetragen haben. Insbesondere danke ich der MTA Frau H. Kärst, die mir bei der Durchführung der labortechnischen Arbeiten eine sehr große Hilfe war.

Weiterhin danke ich Herrn Ass.-Prof. Dr. Kretschmer aus der Fachrichtung Biometrie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin, für die freundliche Beratung bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse.



